

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia
Agroindustrial



Dissertação

**EFEITO DOS TRATAMENTOS ALCALINO, ÁCIDO E OXIDATIVO
NAS PROPRIEDADES DE AMIDO DE MILHO**

Franciela Spier

Pelotas, 2010

Franciela Spier

**EFEITO DOS TRATAMENTOS ALCALINO, ÁCIDO E OXIDATIVO NAS
PROPRIEDADES DE AMIDO DE MILHO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia Agroindustrial.

Orientadores: Prof. Dr. Alvaro Renato Guerra Dias
Prof.Dr. Moacir Cardoso Elias

Pelotas, 2010

Dados de catalogação na fonte:

(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

S755e Spier, Franciela

Efeito dos tratamentos alcalino, ácido e oxidativo nas propriedades de amido de milho / Franciela Spier; orientadores Alvaro Renato Guerra Dias e Moacir Cardoso Elias. - Pelotas, 2010.

-72f. ; il.

Dissertação (Mestrado) –Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel . Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2010.

1. Ácido láctico 2.Hipoclorito de sódio 3.Hidróxido de sódio
4.Modificação 5.Amido de milho I Dias, Alvaro Renato Guerra (orientador) II .Elias, Moacir Cardoso(orientador) III.Título.

CDD 664.725

Banca examinadora:

Prof. Dr. Alvaro Renato Guerra Dias

Prof.Dr. Moacir Cardoso Elias

Prof. Dr. Paulo Romeu Gonçalves

Prof. Dr. Fabrízio da Fonseca Barbosa

Agradecimentos

À minha família, sempre presente, compartilhando os momentos bons e ruins da minha vida. Às minhas três irmãs (Loiva, Lovani e Marinês) por serem minhas “mães-irmãs”. À minha mãe Valéria, ao meu pai Egon, pelo amor incondicional, por não medirem esforços, nunca, para me fazerem feliz a cada dia e principalmente, por serem exemplos de bom caráter e dignidade.

Ao Prof. Alvaro Renato Guerra Dias pela orientação, confiança e incentivo nos momentos difíceis.

Ao Prof. Moacir Cardoso Elias pela receptividade.

Aos Professores Rui Carlos Zambiasi e César Valmor Rombaldi pela ajuda científica e pela amizade.

Aos meus professores da graduação pela amizade, carinho e por todas as lições, inclusive as de vida.

Ao Prof. Luis Carlos Gutkoski pela oportunidade de estágio no Laboratório de Cereais, onde aprendi muito.

À Tânia Santetti, pelo apoio, amizade e por fazer do laboratório um ambiente tão agradável.

À Karize e Cristiane pelo auxílio nas análises.

À Ana Cláudia Margarites e Fernanda Pagnussatt por serem sempre minhas grandes amigas.

À Ana Paula, Roberta, Camila, Marla, Fernanda, Rafael, Andressa, Gabriela, Shanise, Daniel e Cristiano pela disponibilidade em ajudar.

Ao Gilberto, Fernanda, Flávia, Lúcia, Priscila e Letícia, grandes amigos que eu fiz no laboratório de grãos e dos quais eu vou sentir muita falta.

À Elessandra Zavareze, minha grande amiga e incentivadora, uma das melhores pessoas que eu já conheci dedicada às pessoas e ao trabalho. Sempre disposta a ajudar, contribuiu muito na realização desse trabalho, muito mesmo. Obrigada por tudo!

A toda equipe do laboratório de grãos, com certeza cada um contribuiu um pouco para realização deste trabalho.

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho à minha família, em especial aos meus amados pais Egon e Valéria.

Resumo

SPIER, Franciela. **Efeito dos Tratamentos Alcalino, Ácido e Oxidativo nas Propriedades de Amido de Milho** 2010. 72f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O mercado de amidos vem crescendo e se aperfeiçoando, levando à busca de produtos com características específicas que atendam às exigências da indústria. A utilização de amidos nativos é limitado, em função das condições de processamento como temperatura, pH e pressão que restringem sua aplicação em escala industrial. A produção de amidos modificados é uma alternativa que vem sendo desenvolvida há algum tempo com o objetivo de superar uma ou mais limitações dos amidos nativos, aumentando sua utilização na indústria. O objetivo do trabalho foi avaliar as propriedades de amido de milho modificado quimicamente, de forma isolada ou combinada, pela ação alcalina, ácida e oxidativa. Os amidos de milho foram tratados com solução de hidróxido de sódio nas concentrações de 0,09% e 0,18%, com solução de ácido láctico, 2% e 4%, e com solução de hipoclorito de sódio 1% e 2%. Posteriormente foram neutralizados, lavados, secos, moídos e armazenados. Os amidos foram avaliados quanto ao teor de amilose, teor de carbonila e carboxila, propriedades de pasta, difração de raio-X, poder de inchamento e solubilidade e suscetibilidade enzimática. Os amidos de milho oxidados com hipoclorito de sódio (2%) apresentaram uma redução nos teores de amilose e os tratados com álcali e ácido um acréscimo. O tratamento oxidativo aumentou os teores de carbonila e carboxila com o aumento da concentração de hipoclorito de sódio. Dentre os tratamentos estudados o oxidativo foi o que interferiu mais nas propriedades de pasta do amido, aumentando a viscosidade máxima e a quebra, além de reduzir a temperatura de pasta e a viscosidade final. A interação entre os tratamentos alcalino e ácido aumentou a cristalinidade relativa do amido de milho. O tratamento oxidativo aumentou a solubilidade do amido de milho em todas as temperaturas analisadas, principalmente nas temperaturas de incubação mais elevadas, sendo que na maior concentração (2%), aumentou significativamente a taxa de hidrólise.

Palavras-Chave: modificação, hidróxido de sódio, ácido láctico, hipoclorito de sódio

Abstract

SPIER, Franciela. **Effect of alkali, acid and oxidative treatments on the properties of corn starch** 2010. 72f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The starch market has been growing and improving, leading to search for products with unique functional properties that industry requirements. The use of native starches is limited, depending on the processing conditions such as temperature, pH, pressure restricting its application in industrial scale. The production of modified starch is an alternative that has been in development for some time in order to overcome one or more limitations of native starches, increasing its use in industry. The objective of this research was to evaluate the properties of corn starch chemically modified, alone or combined action by the acid, oxidative and alkaline. The corn starch granules were treated with a solution of sodium hydroxide at concentrations of 0.09% and 0.18%, with lactic acid solution, 2% and 4%, and a solution of sodium hypochlorite 1% and 2%. Later were neutralized, washed, dried, ground and stored. The starches were evaluated for amylose content, content of carbonyl and carboxyl, paste properties, diffraction of X-ray, swelling power and solubility and enzymatic susceptibility. The corn starch oxidized with sodium hypochlorite (2%) showed a reduction in levels of amylose and treated with alkali and acid increased. The oxidative treatment increased gradually, the levels of carbonyl and carboxyl with increasing concentration of sodium hypochlorite. Among the treatments studied the oxidative treatment was more interference in the pasting properties of starch increased the maximum viscosity and breakdown and reduce the pasting temperature and final viscosity. The interaction between the alkaline and acid treatments affected the crystallinity of maize starch. The oxidative treatment increased the solubility of corn starch at all temperatures examined, especially in the incubation temperatures are higher than the highest concentration (2%), significantly increased the rate of hydrolysis

Keywords: modification, sodium hydroxide, lactic acid ,sodium hypochlorite

Lista de Figuras

Figura 1. Organização das regiões amorfas e cristalinas do amido	16
Figura 2. Cadeia de amilopectina	18
Figura 3. Estrutura química da α -D-Glicose segundo projeção de Haworth.....	31
Figura 4. Efeito do tratamento alcalino em diferentes concentrações sobre as propriedades de pasta de amido de milho; (1) nativo, (10) 0,09% de hidróxido de sódio, (19) 0,18% hidróxido de sódio.	49
Figura 5. Efeito do tratamento ácido em diferentes concentrações sobre as propriedades de pasta de amido de milho; (1) nativo, (4) 2% de ácido láctico, (7) 4% ácido láctico.	49
Figura 6. Efeito do tratamento oxidativo em diferentes concentrações sobre as propriedades de pasta de amido de milho. (1) nativo, (2) 1% de hipoclorito de sódio, (3) 2% hipoclorito de sódio.....	50
Figura 7. Efeito da interação entre o tratamento ácido e o tratamento oxidativo em diferentes concentrações sobre as propriedades de pasta de amido de milho, (7) 4% ácido láctico, (8) 4% ácido láctico e 1% hipoclorito de sódio, (9) 4% ácido láctico e 2% hipoclorito de sódio.	50
Figura 8. Efeito da interação entre o tratamento alcalino e o tratamento oxidativo sobre as propriedades de pasta de amido de milho; (19) 0,18% de hidróxido de sódio, (20) 0,18% de hidróxido de sódio e 1% hipoclorito de sódio, (21) 0,18% de hidróxido de sódio e 2% hipoclorito de sódio.....	51
Figura 9. Efeito da interação entre o tratamento alcalino, tratamento ácido e tratamento oxidativo sobre as propriedades de pasta de amido de milho; (25) 0,18% de hidróxido de sódio e 4% de ácido láctico, (26) 0,18% de hidróxido de sódio, 4% de ácido láctico e 1%	

hipoclorito de sódio, (27) 0,18% de hidróxido de sódio, 4% de ácido láctico e 2% hipoclorito de sódio.	51
Figura 10. Difractograma de raio-X dos amidos de milho modificados quimicamente com ácido láctico e hipoclorito de sódio em diferentes concentrações.	52
Figura 11. Difractograma de raio-X dos amidos de milho modificados quimicamente com hidróxido de sódio (0,09%), ácido láctico e hipoclorito de sódio em diferentes concentrações.	52
Figura 12. Difractograma de raio-X dos amidos de milho modificados quimicamente com hidróxido de sódio (0,18%), ácido láctico e hipoclorito de sódio em diferentes concentrações.	53
Figura 13. Difractograma de raio-X dos amidos de milho modificados quimicamente avaliando o efeito dos tratamentos alcalino ácido e oxidativo e suas interações.	53

Lista de Tabelas

Tabela 1. Delineamento para avaliar as propriedades do amido de milho modificado quimicamente através de tratamento alcalino, ácido e oxidativo.	33
Tabela 2. Programação do RVA utilizada nas análises viscoamilográficas.....	38
Tabela 3. Teor de amilose de amido de milho modificado com tratamento alcalino, ácido e oxidativo.....	41
Tabela 4. Teor de carbonila e carboxila de amido de milho modificado com tratamento alcalino, ácido e oxidativo.	43
Tabela 5. Propriedades de pasta dos amidos de milho modificados pelos tratamentos alcalino, ácido e oxidativo.	48
Tabela 6. Intensidade dos picos e cristalinidade relativa de amidos de milho modificados com tratamento alcalino, ácido e oxidativo.	54
Tabela 7. Poder de inchamento e solubilidade dos amidos de milho modificados pelos tratamentos alcalino, ácido e oxidativo.	56
Tabela 8. Porcentagem de hidrólise de amidos de milho modificados com tratamento alcalino, ácido e oxidativo.	59

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 CARACTERÍSTICA DO AMIDO	15
2.1.1 Estrutura e organização.....	15
2.1.2 Amilose e amilopectina.....	16
2.1.3 Outros constituintes	18
2.1.4 Cristalinidade do amido	19
2.1.5 Gelatinização e retrogradação.....	19
2.2 ANÁLISES DE AMIDO	20
2.2.1 Poder de inchamento e solubilidade.....	20
2.2.2 Microscopia	21
2.2.3 Difração de raio-X.....	22
2.2.4 Comportamento térmico	22
2.2.5 Propriedades de pasta.....	23
2.2.6 Hidrólise.....	24
2.3 AMIDO DE MILHO	25
2.4 AMIDO MODIFICADO.....	26
2.4.1 Tratamento alcalino	28
2.4.2 Hidrólise ácida	29
2.4.3 Oxidação	30
3 MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1 MATERIAL.....	32
3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	32
3.3 TRATAMENTOS.....	34
3.3.1 Tratamento com hidróxido de sódio.....	34
3.3.2 Tratamento com ácido láctico.....	34
3.3.3 Tratamento com hipoclorito de sódio.....	35
3.4 AVALIAÇÕES.....	35
3.4.1 Determinação de umidade.....	35
3.4.2 Determinação de amilose	35
3.4.3 Determinação de carbonila.....	36
3.4.4 Determinação de carboxila	37

3.4.5 Características viscoamilográficas.....	37
3.4.6 Poder de inchamento e solubilidade.....	39
3.4.7 Suscetibilidade enzimática à α -amilase.....	39
3.4.8 Difração por raio-X.....	38
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	40
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
4.1 TEOR DE AMIOSE.....	40
4.2 TEOR DE CARBONILA E CARBOXILA.....	42
4.3 PROPRIEDADES DE PASTA.....	45
4.4 DIFRAÇÃO DE RAIO-X.....	52
4.5 PODER DE INCHAMENTO E SOLUBILIDADE.....	55
4.6 SUSCETIBILIDADE ENZIMÁTICA.....	58
5 CONCLUSÕES.....	62
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63

1 INTRODUÇÃO

O amido é a fonte de reserva dos vegetais, podendo ser encontrado em raízes, sementes e tubérculos sendo constituído, basicamente, por uma mistura de dois polissacarídeos, amilose e amilopectina, em proporções que variam com a espécie e o grau de maturação. As propriedades de amidos isolados (tamanho dos grânulos, viscosidade, grau de ramificação, propriedades de gelatinização) variam muito, o que pode afetar sua digestibilidade e sua função em alimentos processados.

O mercado de amidos vem crescendo e se aperfeiçoando, levando à busca de produtos com características específicas que atendam às exigências da indústria. Amidos nativos têm sido utilizados como ingredientes no preparo de diferentes produtos, entretanto, seu uso é limitado em função das condições de processamento, como temperatura e pH, que restringem sua aplicação em escala industrial. A produção de amidos modificados é uma alternativa que vem sendo desenvolvida há algum tempo com o objetivo de superar uma ou mais limitações dos amidos nativos, aumentando sua utilidade na indústria. As razões que levam à modificação são: modificar as características de cozimento; diminuir a retrogradação; reduzir a tendência de gelificação das pastas; aumentar a estabilidade das pastas ao resfriamento e descongelamento; aumentar a transparência das pastas ou géis; melhorar a textura das pastas ou géis.

O tratamento alcalino com bases fortes ainda é pouco aplicado em amido, mas a capacidade destas em penetrar no grânulo e promover um relaxamento da estrutura ou até mesmo de desestruturar o grânulo é intensa. Estudos têm sido realizados sobre o efeito do tratamento alcalino em amidos, porém, relativamente, o efeito do álcali não foi extensivamente estudado quando se compara com os efeitos da hidrólise ácida e enzimática do amido.

Na modificação ácida, o ácido penetra livremente pelas partes amorfas do grânulo de amido. O íon hidroxila ataca o átomo de oxigênio glicosídico e hidrolisa as ligações glicosídicas. O efeito principal do ácido é reduzir o peso molecular das moléculas de amido, alterando suas propriedades físico-químicas, porém deixando intacta a estrutura cristalina do grânulo. As propriedades físico-químicas dos amidos ácido-modificados diferem de acordo com sua origem e as condições da preparação.

A modificação por oxidação é produzida pela reação do amido com quantidade específica de reagente em pH e temperatura controlados. Durante a reação de oxidação, que causa a despolimerização resultando em menor viscosidade, os grupos hidroxila das

moléculas de amido são primeiramente oxidados a grupos carbonila e posteriormente a grupos carboxila, os quais retardam a retrogradação. A maioria das oxidações encontradas na literatura foi conduzida usando altos níveis de oxidantes, mas poucos estudos tem sido realizados para examinar as mudanças da amilose e amilopectina com baixos níveis de oxidante.

O objetivo do trabalho foi avaliar as propriedades de amido de milho modificado quimicamente, de forma isolada ou combinada, pela ação alcalina (hidróxido de sódio), ácida (ácido láctico) e oxidativa (hipoclorito de sódio).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Característica do amido

2.1.1 Estrutura e organização

O amido é um polissacarídeo natural, sendo a principal fonte de reserva de carboidratos em plantas e constitui fonte de energia essencial para muitos organismos (RICHARDSON e GORTON, 2003). O amido é a substância que proporciona de 70 a 80% das calorias consumidas pelos seres humanos. As mais importantes fontes potenciais do amido são os grãos de cereais (40 a 90% do seu peso seco), legumes (30 a 70% do seu peso seco) e os tubérculos (65 a 85% do seu peso seco) (FREITAS et al., 2003).

O amido é o único polissacarídeo produzido em pequenos agregados individuais denominados grânulos que apresenta tamanho variável, sendo composto pelas macromoléculas amilose e amilopectina. O tamanho, a forma e a estrutura desses grânulos variam de acordo com a fonte botânica, com o estágio de desenvolvimento da planta e forma de tuberização. Os diâmetros dos grânulos geralmente variam de 1 a 100 µm, e os formatos podem ser regulares ou irregulares (LIU, 2005).

Os grânulos apresentam um hilo, que constitui o centro de nucleação, ao redor do qual se desenvolve o grânulo. O hilo pode estar no centro do grânulo ou deslocado lateralmente. Os grânulos de amido são estruturas semicristalinas compostos de macromoléculas lineares e ramificadas arranjadas na direção radial. Essas moléculas formam pontes de hidrogênio, e estão associadas paralelamente o que resulta no aparecimento de regiões cristalinas (GALLANT et al., 1997). Esse arranjo torna os

grânulos birrefringentes quando observados sob luz polarizada, apresentando uma cruz de polarização denominada Cruz de Malta. Os diferentes graus de ordenamento estrutural dos grânulos são responsáveis pelas propriedades de birrefringência e cristalinidade. A birrefringência óptica e as propriedades de difração de raios-X fornecem ampla evidência de uma estrutura ordenada do grânulo de amido. Esta estrutura é formada por camadas concêntricas, que podem ser observadas em microscopia eletrônica (CEREDA, 2001).

As regiões cristalinas do grânulo de amido são formadas por cadeias ramificadas da molécula de amilopectina e são alternadas com camadas amorfas (Figura 1) As ramificações agrupadas de amilopectina ocorrem como feixes de dupla hélice (LIU, 2005).

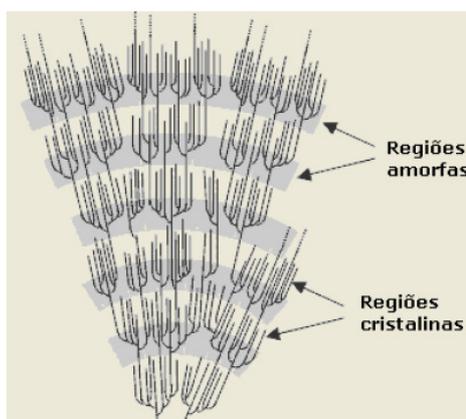


Figura 1. Organização das regiões amorfas e cristalinas do amido

Fonte: LSBU (2009).

De acordo com Biliaderis (1991), são as áreas cristalinas do amido que mantêm a estrutura do grânulo, controlam seu comportamento na presença de água e controlam a resistência aos ataques enzimáticos ou químicos. A fase gel ou amorfa dos grânulos é a região menos densa e mais suscetível ao ataque enzimático e ainda absorve mais água em temperaturas abaixo da temperatura de gelatinização. Não existe uma demarcação específica entre as regiões cristalinas e amorfas.

2.1.2 Amilose e amilopectina

A amilose é um polímero essencialmente linear composto quase que completamente de ligações α - 1,4 nas unidades de D-glicose. Recentes evidências, entretanto, sugerem a presença de algumas ramificações nesse polímero (LIU, 2005). Embora ilustrada tipicamente por uma estrutura linear de cadeia, a amilose é

frequentemente helicoidal. O interior da hélice contém átomos de hidrogênio sendo, portanto, hidrofóbica e permite que a amilose forme complexos com ácidos graxos livres com componentes glicéridos dos ácidos graxos, com alguns alcoóis e com o iodo, formando com este, um complexo de coloração azul. (THOMAS e ATWEL, 1999). A massa molecular da amilose é dependente da fonte e das condições de processamento empregadas na extração do amido, mas geralmente varia de $1,5 \times 10^5 - 10^6$, com tamanho médio de 10^3 unidades de glicose (FRANCO et al., 2001).

O teor de amilose nos grânulos de amido varia de acordo com a fonte vegetal de origem, mas, geralmente, encontra-se nos intervalos de 20-30% em amidos normais de cereais. O amido de milho contém entre 25-28% de amilose, enquanto o de mandioca possui apenas 17%. Algumas variedades de milho, cevada e arroz, referidas pelo termo ceroso (*waxy*) não possuem amilose, sendo constituídas totalmente por amilopectina, enquanto outros amidos possuem teores de amilose acima de 50% e são denominados de *high-amilose* (WEBER et al., 2009). Estes amidos, por apresentarem diferentes teores de amilose, possuem propriedades funcionais distintas.

O amido de milho normal se caracteriza pela formação de um gel consistente, é bastante utilizado em sopas desidratadas e molhos que requerem viscosidade a quente. Já, para produtos que necessitam de armazenamento sob refrigeração, esse amido não é muito indicado devido à sinérese (exsudação de água), consequência do fenômeno de retrogradação. Nesses casos, é mais indicado o uso do amido de milho ceroso que apresenta maior estabilidade a baixas temperaturas, pelo fato de praticamente não possuir amilose. Os géis feitos com esse amido são fracos, altamente viscosos no cozimento, claros e coesivos. Os amidos *high-amilose* gelificam e formam filmes com facilidade devido ao alto conteúdo de amilose. (PARKER e RING, 2001).

A estrutura da amilopectina, além das ligações do tipo α -1,4 presentes entre as unidades de D-glicose na cadeia principal, é caracterizada pelo alto grau de ramificação. Essas ramificações ocorrem em um percentual de 5 a 6% de ligações α -1,6 nas unidades de D-glicose e essa região é constituída por duplas hélices. A amilopectina apresenta massa molecular na ordem de $(50 \text{ a } 500) \times 10^6$ (LIU, 2005). Na presença de iodo, resulta em uma coloração avermelhada.

A estrutura da amilopectina apresenta muitas ramificações (Figura 2), sendo constituída por uma cadeia principal, chamada cadeia C, que carrega o grupo redutor da molécula, e inúmeras ramificações, denominadas de cadeias A e B. As cadeias A são conectadas a outras cadeias através de ligações α -1,6, mas não carregam ramificações.

As cadeias B são conectadas a outras cadeias também via ligação α -1,6, e possuem uma ou mais cadeias A ou B, conectadas através de ligações α -1,6 (CEREDA, 2001).

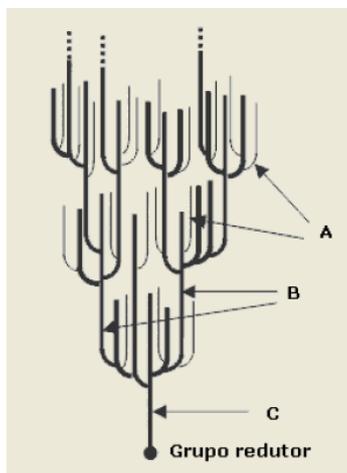


Figura 2. Cadeia de amilopectina

Fonte: CEREDA (2001)

Segundo Pan et al. (2000), a distribuição de amilose e amilopectina ao longo da distribuição radial dentro do grânulo de amido não é uniforme. A amilose é encontrada de forma mais concentrada na periferia e as amilopectinas de cadeias longas no centro do grânulo.

2.1.3 Outros constituintes

Os grânulos de amido apresentam geralmente entre 0,5 a 2% de constituintes que não são carboidratos, incluindo de 0,05% (p/p) de proteínas, 0,1 a 1,7% (p/p) de lipídeos a 0,1 a 0,3% (p/p) de cinzas. Apesar de estarem presentes em menor percentual, podem ter influências marcantes nas propriedades do amido (LIU, 2005). Os lipídeos, que representam em média 0,6% da composição de amidos de cereais, são considerados a fração mais importante associada e podem complexar com amilose, alterando as propriedades reológicas do amido. Outros componentes como proteínas e várias substâncias inorgânicas, são consideradas impurezas, uma vez que não estão ligadas covalentemente com os polissacarídeos formadores do grânulo (PERONI, 2003).

As proteínas podem ocasionar sabor e cor desagradáveis ao amido pela reação entre os aminoácidos e os açúcares redutores, reação de Maillard, durante o processamento, além de afetar na hidratação e interferir na interação entre os grânulos e

as enzimas hidrolíticas (LIU, 2005). A presença de fósforo nos grânulos de amido modifica as propriedades funcionais. Segundo Blenow (2000), o fósforo aparece ligado covalentemente aos grânulos nativos, o que altera propriedades como claridade, viscosidade e consistência da pasta.

2.1.4 Cristalinidade do amido

A cristalinidade dos grânulos é descrita principalmente em função das duplas hélices formadas pelas ramificações da amilopectina (HOOVER, 2001). Os grânulos de amido, por serem parcialmente cristalinos, apresentam padrões específicos de difração de raio-X, que variam de acordo com a fonte vegetal. O padrão A é característico dos cereais, o padrão B de tubérculos, frutas, milho com alto teor de amilose e dos amidos retrogradados e o padrão C, é considerado uma mistura dos padrões A e B e é característico de amidos de leguminosas (BELLO-PEREZ et al., 2006).

A cristalinidade do tipo A e B contém organização similar, com arranjo de duplas hélices designadas de células unitárias. A diferença entre os tipos de cristalinidade A e B encontra-se no empacotamento das células unitárias. O amido com cristalinidade do tipo A possui em torno de 3 a 6 unidades de D-glicose na célula unitária. O tipo A adota um empacotamento mais fechado, enquanto que a estrutura do tipo B contém duas unidades de D-glicose e adota uma organização mais aberta entre as macromoléculas com uma coluna de água presente entre o arranjo das duplas hélices (DONNALD, 2004).

2.1.5 Gelatinização e retrogradação

O amido é praticamente insolúvel em água fria apesar de sofrer um certo grau de inchamento. Os sítios de ligação da água são os grupos hidroxilas e os átomos de oxigênio no interior da D-glicose, sendo que a presença dos grupos hidroxilas acarreta uma natureza altamente hidrofílica ao amido. A insolubilidade do grânulo é devida às fortes ligações de hidrogênio que mantêm as cadeias de amido unidas. Entretanto, na presença de água e aquecimento, a água é incorporada na estrutura do grânulo e componentes mais solúveis como a amilose se dissociam e difundem-se para fora do grânulo (PENG et al., 2007).

O amido é o espessante mais utilizado na indústria de alimentos. O espessamento de uma dispersão de amido durante o tratamento térmico em excesso de água (>60%) é o resultado de mudanças irreversíveis que ocorrem geralmente a uma temperatura compreendida entre 60°C e 70°C sendo conhecido como gelatinização (LAGARRIGUE et al., 2008). A temperatura varia de acordo com o amido utilizado (ELIASSON e GUDMUNDSSON, 2006). A gelatinização pode ser caracterizada por uma endoterma obtida através da calorimetria diferencial de varredura (DSC) pela perda da birrefringência, observada usando-se microscopia de luz polarizada (Cruz de Malta), desaparecimento da cristalinidade, inchamento dos grânulos, lixiviação da amilose na fase contínua e eventual ruptura da estrutura dos grânulos (GARCIA et al., 1997). O comportamento da pasta é influenciado pelo tipo de amido, concentração, taxa de cisalhamento, perfil tempo-temperatura, bem como o pH e a presença de outros ingredientes (THOMAS e ATWELL, 1999).

No processo de retrogradação, as moléculas de amido podem reassociar-se e formar estruturas unidas intensamente, altamente estabilizadas pelas pontes de hidrogênio, favorecendo uma estrutura mais ordenada perdendo as regiões reativas (KOKSEL et al., 2008). O amido retrogradado é insolúvel em água fria e torna-se mais resistente ao ataque enzimático. Em função de sua estrutura linear, as moléculas de amilose se aproximam mais facilmente e são as principais responsáveis pela ocorrência do fenômeno, enquanto na amilopectina o fenômeno parece ocorrer somente na periferia de sua molécula (JAILLAIS et al., 2006).

Segundo Munhoz et al. (2004), a retrogradação do amido é um fenômeno que deve ser minimizado por se tratar da reconstrução de uma estrutura mais rígida devido às cadeias de amilose ficarem mais disponíveis para se rearranjarem durante o armazenamento do produto alimentício, resultando em maior perda de água do sistema e endurecimento do produto final

2.2 Análises de amido

2.2.1 Poder de inchamento e solubilidade

O amido puro tem coloração branca, é insípido e se adicionado à água fria e mantido sob agitação forma uma suspensão de aspecto leitoso separando-se após o

repouso. Entretanto, uma pequena fração torna-se solúvel quando agitado em água, ocasionando um pequeno inchamento, sendo considerado como praticamente insolúvel. A insolubilidade dos grânulos de amido é devida às fortes ligações de hidrogênio que mantêm as cadeias unidas (CEREDA, 2001). Porém, quando o amido é aquecido em excesso de água, acima da temperatura de empastamento, a estrutura cristalina é rompida pelo relaxamento das pontes de hidrogênio e as moléculas de água interagem com os grupos hidroxilas da amilose e da amilopectina. Isso causa um aumento do tamanho dos grânulos devido ao inchamento com parcial solubilização (HOOVER, 2001).

O poder de inchamento dos grânulos, que pode ser determinado pelo aquecimento da amostra de amido em excesso de água, é definido como o peso do sedimento inchado (g) por grama de amido. A solubilidade do amido também pode ser determinada na mesma suspensão; sendo expressa como a porcentagem (em peso) da amostra de amido que é dissolvida após aquecimento (LEACH et al., 1959).

Peroni (2003) determinou o poder de inchamento e solubilidade de vários amidos no intervalo de 60 a 95°C a fim de estabelecer evidências do grau de associação molecular dentro do grânulo de amido. Concluiu que o poder de inchamento e solubilidade são fortemente influenciados pela fonte botânica. O amido de milho, apresenta inchamento limitado que ocorre em dois estágios. Isto sugere dois tipos de forças envolvidas nas interações entre as cadeias poliméricas que relaxam a diferentes temperaturas. Féculas como a de mandioca e de batata apresentam grande inchamento em temperaturas mais baixas, o que indica interações mais fracas e uniformes. De maneira geral a solubilidade e o poder de inchamento apresentam-se correlacionados (LEACH et al., 1959).

2.2.2 Microscopia

Os grânulos de amido têm sido submetidos a investigações estruturais desde o surgimento do microscópio. A escolha da técnica e do microscópio para uma visualização de alta resolução da estrutura dos grânulos, depende do tipo de informação requerida, ou seja, superfície, ou estrutura interna. Informações sobre a superfície dos grânulos podem ser conseguidas, tanto com a microscopia eletrônica de varredura (SEM), como por microscopia de força atômica (AFM). Informações sobre a estrutura interna requerem o uso de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) (GALLANT et al., 1997).

A microscopia eletrônica de varredura é utilizada em muitos trabalhos, para a definição da estrutura dos grânulos, contribuindo para sua caracterização, principalmente quando se estuda amidos de diferentes fontes botânicas, com diferentes tratamentos de modificações (MARTINEZ-BUSTOS et al., 2007). Para Aggarwal e Dollimore (1998), a análise por meio de microscopia pode ser utilizada para examinar os grânulos resultantes do processo de hidrólise parcial devido a degradação não ocorrer de maneira uniforme. Essa técnica evidencia que a zona amorfa do grânulo é mais suscetível ao ataque enzimático assim como sugere que a organização interna do cristal apresenta blocos que resistem diferenciadamente à hidrólise.

2.2.3 Difração de raio-X

A difração de raios X pelos cristais resulta de um processo em que os raios X são dispersos pelos elétrons dos átomos sem mudança do comprimento de onda (dispersão de Bragg). Um elétron de um átomo é influenciado pelos raios X e excitado em campo flutuante, tornando-se uma fonte de ondas eletromagnéticas de mesma frequência e comprimento de onda que os raios incidentes. Desta forma, o elétron do átomo dispersa o feixe incidente, combinando-se para difratar a radiação X (CARVALHO FILHO, 2000).

A técnica de difração dos raios-X detecta as repetições ordenadas regulares das hélices, refletindo a ordem tridimensional dos cristais do amido. Através desta classificação pode-se agrupar a maioria dos amidos de acordo com as suas propriedades físicas (DONNALD et al., 2004). Esta técnica é o melhor método para estimar a cristalinidade, entretanto é um procedimento lento porque todas as amostras precisam conter a mesma quantidade de água para efeito de comparação. A hidratação interfere na análise uma vez que, aumenta a ordem estrutural e a resolução dos resultados (LELOUP et al., 1992).

2.2.4 Comportamento térmico

A análise do comportamento térmico é um conjunto de técnicas que têm um princípio comum: quando uma determinada amostra é aquecida ou resfriada de acordo com uma programação controlada de temperatura, alguma propriedade física ou química pode ser observada e registrada (MATSUGUMA, 2006). Segundo Krieger et al. (1997), as

propriedades térmicas de amidos podem ajudar a determinar sua funcionalidade específica e, portanto, ser um indicativo de sua aplicação.

De acordo com Ionashiro (2005), a técnica de calorimetria diferencial de varredura (DSC) permite avaliar as variações entálpicas que ocorrem com uma dada substância durante um processo de aquecimento ou resfriamento. O termo "diferencial" dá ênfase àquelas medidas que envolvem tanto a própria substância como um material termicamente estável. De acordo com Carvalho Filho (2000), qualquer fenômeno físico ou químico que por ocasião de sua ocorrência provoque variações de entalpia pode ser detectado através desta técnica e à medida que a sensibilidade dos instrumentos foi sendo aumentada, a aplicabilidade do método foi também sendo consideravelmente ampliada.

A calorimetria diferencial de varredura (DSC), quando aplicada ao amido, fornece medidas quantitativas do fluxo de calor associado à gelatinização, em que os picos endotérmicos são indicativos de fusão. Para detecção das fases de transição nos amidos, os métodos de DSC têm a vantagem de serem independentes da birrefringência dos grânulos. As mudanças de entalpia observadas em DSC geralmente são relacionadas à transição do tipo ordem e desordem dos cristais presentes em extensos arranjos ordenados internos e em regiões de menor ordem cristalina do grânulo (YU e CHRISTIE, 2001; KARLSSON e ELIASSON, 2003).

Nos últimos anos, a calorimetria diferencial de varredura vem sendo amplamente utilizada para o estudo do comportamento térmico de amidos. O estudo de propriedades térmicas pode auxiliar nos caminhos do processamento de amidos e também na exploração e entendimento da estrutura granular (ZHONG e SUN, 2005).

2.2.5 Propriedades de pasta

Segundo Mestres e Rouau (1997), o aquecimento do amido em excesso de água ocasiona a perda da estrutura cristalina, produz inchamento dos grânulos e solubilização parcial dos polímeros, resultando no aparecimento das propriedades viscoelásticas do amido. Nas aplicações de amido no processamento de alimentos é comum que seja suspenso em água e submetido ao aquecimento. Dependendo da severidade das condições do tratamento térmico (tempo, temperatura, pressão e cisalhamento), teor de umidade e presença de outros constituintes, a fase de separação da amilose e

amilopectina pode iniciar ainda durante o processamento, resultando em um composto heterogêneo (DAIUTO, 2005).

As mudanças que ocorrem nos grânulos de amido durante a gelatinização e retrogradação são os principais determinantes do comportamento de pasta desses amidos, as quais têm sido medidas principalmente pelas mudanças de viscosidade durante o aquecimento e resfriamento de dispersões de amido usando equipamentos denominados viscoamilógrafos, sendo utilizados o viscoamilógrafo Brabender e o viscoamilógrafo rápido ou Rápido Visco Analisador (RVA, Newport Scientific, Narabeen, Austrália) (SILVA et al., 2008).

No RVA (Rápido Visco Analisador), durante a fase inicial de aquecimento de uma suspensão aquosa de amido, é registrado um aumento na viscosidade quando os grânulos começam a inchar. Neste ponto, polímeros com baixo peso molecular, particularmente moléculas de amilose, começam a ser lixiviadas dos grânulos. Um pico de viscosidade é obtido durante o empastamento, quando existe a maioria dos grânulos totalmente inchados, grânulos intactos e o alinhamento molecular de qualquer polímero solubilizado ainda não ocorreu dentro do campo de atrito do instrumento (TSAI et al., 1997). Durante a fase de temperatura constante (95°C) os grânulos começam a se romper e a solubilização dos polímeros continua. Neste ponto ocorre uma quebra na viscosidade. Durante a fase de resfriamento, polímeros de amilose e amilopectina solubilizados começam a se reassociar e um outro aumento na viscosidade é registrado. Este segundo aumento da viscosidade é conhecido como tendência a retrogradação.

2.2.6 Hidrólise

A hidrólise de amidos, comumente, é realizada por duas vias: enzimática e ácida (PASSOS, 2002). A hidrólise ácida apresenta a vantagem de ser mais rápida, porém tem como desvantagens evidentes, os problemas de corrosão de equipamentos e necessidade de neutralização com subsequente retirada dos sais formados (SURMELY et al., 2003). A quebra do amido por meio de enzimas exige uma série de condições distintas e muito específicas, é mais onerosa e ainda não amplamente utilizada no Brasil. Apesar disso, a atuação das enzimas mostra alta especificidade, possibilitando a obtenção de produtos de propriedades físico-químicas bem definidas além do que o processo ocorre em reações mais brandas (EDUARDO, 2002). A hidrólise enzimática é o

procedimento industrialmente utilizado quando o objetivo é um produto mais refinado como a glicose ou xarope concentrado de maltose (BRAMBILLA, 2001).

No processo completo de hidrólise, o amido é convertido em uma mistura de vários oligossacarídeos e dextrinas diferentes pelo uso da α -amilase. Essas maltodextrinas, ligeiramente doces, são submetidas a mais uma conversão pela adição de outras enzimas promotoras do desdobramento total das moléculas de amilose ou amilopectina que ao se romperem transformam-se em dextrinas cada vez mais simples e finalmente em glicose (CEREDA, 2001).

As amilases representam a maior parte do mercado de enzimas no mundo. A maior aplicação para a α -amilase está na produção de hidrolisados de amidos. A atuação da α -amilase tem por objetivo a quebra das ligações glicosídicas α , 1-4 em cadeias mais curtas, no entanto, as ligações α , 1-6 não são quebradas pela ação desta enzima (GUPTA et al., 2003). A ação contínua da α -amilase causa erosão nos grânulos que podem vir a ser dissolvidos completamente.

A hidrólise enzimática também tem sido utilizada como técnica que possibilita a compreensão da estrutura física e química dos grânulos de amido e de seus componentes. A taxa de hidrólise dos grânulos de amido depende da origem botânica do sistema enzimático utilizado e do tamanho dos grânulos, entre outros fatores. Amidos que naturalmente apresentam superfície mais porosa, como os de milho, são degradados mais facilmente que aqueles cuja superfície é lisa, como o de mandioca (SERRANO e FRANCO, 2005).

A hidrólise parcial resulta na despolimerização do amido e é possível monitorar o evento por técnicas complementares como: produtos da hidrólise do amido granular, microscopia, entre outras (CHUNG e LAI, 2006).

2.3 Amido de milho

O amido de milho é responsável por mais de 80% do mercado mundial de amidos e a maior produção se encontra nos Estados Unidos (JOBBLING, 2004). No Brasil, os amidos mais isolados industrialmente são os amidos de milho e de mandioca. Aproximadamente 70 % do amido de milho produzido é convertido em xarope de milho, xarope com alto teor de frutose e dextrose (BILIADERIS, 1992).

Segundo Singh et al., (1997) as transformações químicas, bioquímicas e operações mecânicas envolvidas no processo industrial de moagem úmida na obtenção

do amido de milho, separam o grão de milho em frações relativamente puras de germe, fibra, amido e proteína. O procedimento pode ser dividido em seis etapas principais: maceração, primeira moagem, separação do germe, segunda moagem, separação das fibras e separação glúten-amido. A primeira etapa, a maceração, é a mais importante, pois nela acontecem os fenômenos químicos e bioquímicos que preparam os grãos para serem moídos com maior eficiência. Os fenômenos mais importantes, nesta etapa, são a hidratação dos grãos, a ativação de proteases e reações de quebra das redes de proteínas que envolvem os grânulos de amido dentro do endosperma. Para que isto aconteça é imprescindível que ocorra a difusão de três componentes para o interior do grão: água, dióxido de enxofre (SO₂) e ácido láctico (LOPES et al., 2006).

O teor de amido no milho varia de 68% a 74% de acordo com a fonte vegetal de origem, enquanto o teor de amilose nos grânulos de amido encontra-se, geralmente, nos intervalos de 20-30% em amidos normais de cereais. O amido de milho contém entre 25-28% de amilose, enquanto o de mandioca possui apenas 17%. Algumas variedades de milho, cevada e arroz, referidas pelo termo ceroso (“waxy”) não possuem amilose, enquanto outros amidos possuem teores de amilose acima de 50% e são denominados de *high-amilose* (REDDY e SEIB, 2000).

O grânulo do amido de milho tem em média 20 µm de diâmetro e sua forma varia desde a poliédrica até a quase esférica. Os grânulos de amido das células próximas ao exterior do grânulo tendem a ser poliédricos mantendo-se unidos uns aos outros por uma matriz protéica constituindo o endosperma vítreo. As células do interior do grânulo, endosperma opaco, tendem a ser esféricas (HOSENEY, 1991).

2.4 Amido modificado

O amido é o polissacarídeo de armazenamento importante das plantas, possui baixo custo de produção sendo amplamente utilizado nas indústrias de alimentos, papel, têxtil e farmacêutica (YANG et al., 2006). Porém, a utilização de amidos nativos tem alguns inconvenientes, porque as condições do processo (temperatura, pH, pressão) reduzem a sua utilização em aplicações industriais. O amido nativo tem uma baixa resistência ao estresse de cisalhamento, baixa decomposição, retrogradação e sinérese elevadas. Estas deficiências podem ser superadas submetendo o amido à modificações. A estrutura do amido pode ser modificada por agentes químicos, físicos e métodos enzimáticos (SÁNCHEZ- RIVERA et al., 2005).

A característica do amido, como polímero de unidades de glicose ligadas entre si por ligações α -1,4 e α -1,6, possibilita uma série de derivações. Os tratamentos químicos são baseados na disponibilidade de um grande número de radicais hidroxílicos nas moléculas de amido, os quais podem reagir de diferentes formas com diferentes reagentes. Nem todos os amidos respondem da mesma forma aos processos de modificação. Se do ponto de vista químico, o amido é sempre igual, qualquer que seja sua origem botânica, do ponto de vista estrutural, o amido é formado por outros polímeros, em proporções diferentes para cada grupo de plantas (NEVES, 2007).

Existem várias formas para classificação das modificações do amido, uma que separa as modificações entre físicas e químicas e a outra entre reações degradativas e não degradativas. As reações degradativas alteram a estrutura física e química do amido, de forma que suas propriedades não são mais reconhecidas, como o aparecimento da doçura em hidrolisados. Nas reações não degradativas a aparência e até algumas características da estrutura física e química do amido são mantidas, de forma que pode ser difícil reconhecer se o amido foi ou não modificado (CEREDA et al., 2003)

A modificação química de amido é obtida quando o amido nativo é submetido a um tratamento com reagente específico com objetivo de alterar algumas de suas propriedades (SÁNCHEZ-RIVERA et al., 2005). Esta definição inclui a oxidação, hidrólise ácida, acetilação, esterificação, eterificação e ligações cruzadas. Modificações químicas específicas são aplicadas em amidos para satisfazer as exigências de diferentes setores industriais (KARIM et al., 2008).

Muitos tipos de modificações químicas têm sido aplicadas em amidos de diferentes fontes vegetais. As modificações químicas podem provocar alterações estruturais e a introdução de novos grupos funcionais, afetando assim as propriedades físico-químicas dos amidos ampliando sua utilização na indústria e proporcionando produtos amiláceos com as propriedades necessárias para usos específicos (SANDHU et al., 2008).

Alguns fatores tais como a composição do amido, concentração e tipo de reagente, e as condições da reação podem afetar a reatividade do amido durante modificações químicas. A heterogeneidade dos grânulos dentro de uma única fonte de amido pode também afetar a extensão da modificação. As mudanças das propriedades físico-químicas, morfológicas, térmicas e reológicas dos amidos após a modificação são a base para a compreensão da eficiência do processo da modificação do amido em escala industrial (SINGH et al., 2007).

Segundo BeMiller (1997) as razões que levam a modificação do amido nativo são: modificar as características de cozimento (gelatinização); diminuir a retrogradação; reduzir a tendência das pastas em formarem géis; aumentar a estabilidade das pastas ao resfriamento e congelamento; aumentar a transparência e melhorar a textura das pastas ou géis; melhorar a formação de filmes; aumentar a adesividade; adicionar grupamentos hidrofóbicos e introduzir poder emulsificante.

2.4.1 Modificação alcalina

Os agentes alcalinizantes como hidróxido de sódio (NaOH) e carbonato de sódio (Na_2CO_3) tem sido utilizados na produção de amidos modificados e produtos amiláceos com propriedades diferentes daquelas dos amidos nativos (LAI et al., 2002). Muitos estudos têm sido realizados sobre o efeito do tratamento alcalino em amidos, porém, relativamente, o efeito do álcali não foi extensivamente estudado quando se compara com os efeitos da hidrólise ácida e enzimática do amido (MONDRAGÓN et al., 2004).

Segundo Karim et al., (2008) durante o tratamento alcalino o grânulo de amido pode sofrer alterações em sua microestrutura e nas propriedades físico-químicas. Essas alterações variam de acordo com o reagente utilizado, a concentração, o tempo e o tipo de amido utilizado e desempenha um papel importante que afeta as propriedades de pasta, principalmente, o pico de viscosidade, quebra, e grau de gelatinização. O tratamento alcalino parece atacar preferencialmente a região amorfa dos grânulos sendo limitada para a amilopectina, deixando a parte cristalina intacta.

Mondragón et al. (2004) observaram a formação do padrão de difração do tipo "V" (devido ao complexo amilose-lipídeo), em amido de milho gelatinizado, tratado com hidróxido de sódio. Contudo, Karim et al. (2008) tratando amido de sagu com hidróxido de sódio nas concentrações de 0,1 e 0,5% não observaram a formação do padrão tipo "V" sendo que o padrão se manteve como "C", característico para amido de sagu. Os autores justificam essa diferença pelo baixo teor de lipídeos (< 0,1%) do amido de sagu, além do tratamento alcalino ter sido realizado em temperatura ambiente.

2.4.2 Modificação ácida

O processamento de amidos ácido-modificados por suspensão é amplamente utilizado nas empresas de processamento de amido. O amido é suspenso em solução diluída de ácido e mantido à temperatura que varia da ambiente àquela logo abaixo da temperatura de gelatinização. A suspensão é agitada até que a viscosidade potencial do amido esteja reduzida ao valor desejado. A suspensão é então neutralizada com hidróxido de sódio ou carbonato de sódio, lavada e seca. O tipo de ácido depende das características desejadas. Depois de decantado, lavado e seco, o amido modificado pouco difere em aparência do amido não tratado. As variáveis do tipo e da concentração do ácido, a temperatura, concentração do amido e o tempo de reação devem ser selecionados em função do processo e das propriedades desejadas para o amido (MOORTHY, 2000).

São observadas duas fases distintas durante a hidrólise ácida em função do tempo. A primeira fase é atribuída a uma hidrólise relativamente rápida principalmente na zona amorfa do grânulo, enquanto uma segunda fase ocorre de forma mais lenta na zona cristalina do grânulo. Muitos fatores podem contribuir para a proteção da zona cristalina como o empacotamento das cadeias que não permite a penetração do íon do ácido e as ligações glicosídicas que estão no interior das duplas hélices onde o íon de hidrogênio não consegue penetrar (NAKAZAWA e WANG, 2004).

Durante o tratamento ácido, a amilopectina é degradada preferencialmente e de forma mais rápida que a amilose, com a ação do ácido concentrada na região amorfa. Em decorrência há um aumento relativo da amilose como fração linear (RIBEIRO e SERAVALLI, 2004). A principal característica dos amidos ácido-modificados é a baixa viscosidade à quente. Pode-se obter pastas com baixa viscosidade durante a cocção e géis firmes durante o resfriamento (CEREDA et al., 2003).

A degradação ácida envolve principalmente a quebra das moléculas do amido em fragmentos de baixo peso molecular. Aumenta o número de moléculas lineares menores que as moléculas de amilose de amido nativo, alterando suas propriedades físico-químicas, porém deixando intacta a estrutura cristalina do grânulo. O resultado é o aumento da tendência de gelificação da solução de amido e de formar gel sob resfriamento e repouso (SANDHU et al., 2008).

O estudo da estrutura do amido pela hidrólise ácida é uma maneira de melhorar o entendimento do arranjo da amilose e da amilopectina no interior do grânulo de amido. As

estruturas dos resíduos resistentes ao ácido fornecem informações sobre a natureza da região cristalina do grânulo, o que corresponde ao modelo de cluster da amilopectina (SRICHUWONG et al., 2005). As diferenças na taxa e no grau de hidrólise ácida de amido granular têm sido atribuídos a diferenças no tamanho granular, a extensão e o tipo de interações dentro da cadeia grânulo (ou seja, grau e tipo de cristalinidade) e composição do amido (conteúdo de amilose e grau de fosforilação) (HOOVER, 2000). O conteúdo de amilose do grânulo parece ser um dos fatores envolvidos na resistência do amido pela hidrólise ácida (KANG, et al., 1997).

Nakazawa e Wang (2004) observaram que a fécula de batata quando comparada a tapioca, amido de trigo e milho, apresenta o maior teor de hidrólise ácida, provavelmente, por possuir um padrão de cristalinidade do tipo B que adota uma organização mais aberta entre as macromoléculas e ao elevado conteúdo de fósforo presente em sua estrutura. Dentre os quatro tipos de amido de milho estudados (ceroso, nativo, 50% de amilose e 70% de amilose), o amido de milho ceroso foi o que apresentou o maior teor de hidrólise ácida. Segundo os autores, os amidos com elevado teor de amilose, apresentam um inchaço limitado que pode limitar a entrada do ácido na estrutura do grânulo.

A modificação ácida tem sido usada para melhorar as propriedades físico-químicas do amido, particularmente em indústrias de alimentos. A modificação ácida permite que o amido seja usado em uma concentração mais elevada de sólidos para rápida gelificação, promovendo gomas ou geléias com melhor textura e flexibilidade (OGUNSANWO et al., 2005).

2.4.3 Modificação oxidativa

A modificação por oxidação é produzida pela reação do amido com quantidade específica de reagente em pH e temperatura controlados (WANG e WANG, 2003). Os amidos podem ser oxidados por inúmeros agentes como hipoclorito de sódio, de cálcio, persulfato de amônio, permanganato de potássio, peróxido de hidrogênio, ácido peracético, cloridrato de sódio, perboratos e ácido hipoclorítico (ZHANG et al., 2007).

Durante a oxidação ocorre a quebra das ligações D – glicana α -1,4 e D – glicana α -1,6. Como a ligação α -1,4 é a responsável pela ligação entre monômeros de glicose, a oxidação causa a despolimerização e ao mesmo tempo pode haver inclusão de

grupos carbonílicos (C=O) e carboxílicos (COOH), que evitam a retrogradação (SOROKIN et al., 2004). Os grupos carboxílicos por serem mais volumosos que as hidroxilas aumentam o espaço entre as cadeias de amilose evitando que estas se aproximem o suficiente para retrogradar (DIAS, 2001).

Dependendo do agente oxidante e das condições da reação, podem ser gerados grupos carboxila e carbonila (WANG et al., 2007). A importância de cada tipo de reação varia em termos das propriedades do produto final. Tem-se um maior número de grupos hidroxila nos carbonos 2, 3 e 6 (C-2, C-3 e C-6), se comparados aos carbonos 1 e 4 (C-1 e C-4). Desta forma assume-se que a oxidação predomine, provavelmente, nesses sítios ocorrendo uma pequena quantidade nos terminais redutores e não redutores, C-1 e C-4, respectivamente (KUAKPETOON e WANG, 2008).

Na Figura 3 é apresentada a estrutura química da unidade glicopiranosil segundo a projeção de Haworth.

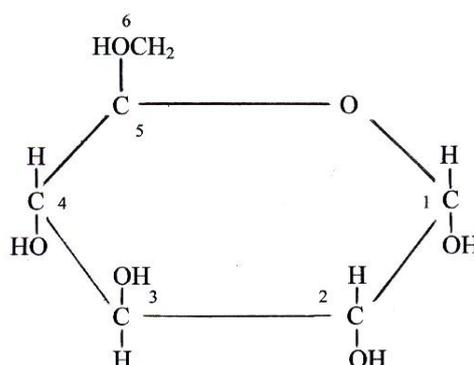


Figura 3. Estrutura química da α -D-Glicose segundo projeção de Haworth.

Fonte: Mayes (1994).

Segundo Takizawa et al. (2004) as amostras de amidos modificados por tratamento oxidativo têm um alto poder redutor se comparadas aos respectivos amidos nativos. Polímeros de glicose foram fragmentados pelo tratamento oxidativo havendo redução do peso molecular e exposição de um alto número de terminais redutores.

A quantidade de solução de NaOCl como medida da porcentagem de cloro na massa de amido dependerá do grau de conversão desejado. O nível de cloro utilizado no processo de oxidação determina se o amido poderá ser classificado como oxidado ou branqueado. Para se obter um amido branqueado com hipoclorito de sódio deve-se

utilizar uma quantidade de cloro ativo suficiente para produzir amidos com teores menores que 0,1% de radicais carboxílicos (TAGGART, 2004).

A eficiência da oxidação pode ser afetada por diversos fatores como pH, temperatura, concentração do reagente, estrutura molecular e organização do amido (SÁNCHEZ-RIVERA et al., 2005; SANDHU et al., 2008). As diferenças nas propriedades físico-químicas dos amidos oxidados de batata, de milho e de arroz foram atribuídas a diferenças no tamanho e forma dos grânulos, assim como na estrutura molecular (KONOO et al., 1996).

A oxidação do amido dá origem a uma pasta clara, fluída e adesiva, que não forma um gel rígido ao resfriar, mas retém sua natureza adesiva e fluidez. Filmes formados a partir de pastas de amidos oxidados são fortes, rígidos e resistentes em contraste com os filmes fracos e poucos resistentes das pastas de amidos ácido-modificados e dextrinas (CEREDA et al., 2003).

Os amidos oxidados são amplamente usados na indústria papelreira, têxtil e de alimentos. O uso de amidos oxidados na indústria alimentícia tem aumentado devido a sua baixa viscosidade, alta estabilidade, claridade, formação de filme e propriedade de retenção de água, e têm sido utilizados como coberturas de alimentos, agentes ligantes em produtos de confeitaria e como emulsificantes (KUAKPETOON e WANG, 2001).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

Foi utilizado amido de milho adquirido no comércio local.

3.2 Delineamento experimental

Na Tabela 1 está apresentado o delineamento experimental composto por 27 tratamentos provenientes da combinação de três concentrações de hidróxido de sódio (0,00, 0,09 e 0,18%), ácido láctico (0,0; 2,0 e 4,0% ácido/amido) e hipoclorito de sódio (0,0; 1,0 e 2,0% - % de Cl ativo/g de amido-b.s.), distribuídos segundo o delineamento inteiramente casualizado com três repetições.

Tabela 1. Delineamento para avaliar as propriedades do amido de milho modificado quimicamente através de tratamento alcalino, ácido e oxidativo.

Tratamentos	Variáveis Independentes			Variáveis Dependentes
	NaOH (%)	Ácido láctico (%)	NaOCl (%)	
1	0,00	0,0	0,0	
2	0,00	0,0	1,0	
3	0,00	0,0	2,0	
4	0,00	2,0	0,0	
5	0,00	2,0	1,0	
6	0,00	2,0	2,0	
7	0,00	4,0	0,0	
8	0,00	4,0	1,0	Amilose
9	0,00	4,0	2,0	Solubilidade
10	0,09	0,0	0,0	Poder de inchamento
11	0,09	0,0	1,0	Viscoamilografia
12	0,09	0,0	2,0	Suscetibilidade α -amilase
13	0,09	2,0	0,0	Difração por raio X
14	0,09	2,0	1,0	Carbonila
15	0,09	2,0	2,0	Carboxila
16	0,09	4,0	0,0	Estatística
17	0,09	4,0	1,0	
18	0,09	4,0	2,0	
19	0,18	0,0	0,0	
20	0,18	0,0	1,0	
21	0,18	0,0	2,0	
22	0,18	2,0	0,0	
23	0,18	2,0	1,0	
24	0,18	2,0	2,0	
25	0,18	4,0	0,0	
26	0,18	4,0	1,0	
27	0,18	4,0	2,0	

3.3 Tratamentos

3.3.1 Tratamento com hidróxido de sódio

A dispersão amido/água foi preparada de acordo com testes preliminares, adicionando-se 2 L de solução de hidróxido de sódio (NaOH) nas concentrações de 0,09 % ou 0,18 % a 1 Kg de amido de milho em um reator, constituído por um béquer de 4 L colocada em banho-maria, mantida a 50°C por 16 h com agitação. Após o período determinado foi realizado a neutralização da suspensão com ácido clorídrico 0,5N até o pH= 7,00. As amostras foram lavadas e filtradas em papel filtro de média porosidade em funil de Büchner sendo dispersas novamente em água destilada e filtradas por mais três vezes para retirada dos sais formados seguindo-se a secagem em estufa com circulação de ar forçada (marca Nova Ética), a 40°C até aproximadamente 10% de umidade. As amostras depois de secas foram processadas em moinho de facas (marca Perten, modelo Laboratory Mill 3100) e envasadas em recipientes hermeticamente fechados, identificadas e armazenadas em temperatura de 25°C.

3.3.2 Tratamento com ácido láctico

A modificação ácida foi realizada de acordo com método descrito por Neves (2007), mediante a dispersão de 800g de amido de milho em 1600mL de água em reator constituído por um béquer de 4L colocado em banho-maria em um recipiente de alumínio, mantido em agitador magnético com aquecimento (marca Quimis). Foi adicionado ácido láctico nas concentrações de 2% ou 4% (p/p amido b.s.) e mantido sob agitação e temperatura constante de 40°C, durante 1h. Após, a dispersão foi neutralizada com hidróxido de sódio 0,1N, lavada e filtrada quatro vezes para retirada dos sais. As amostras foram secas a 40°C em estufa com circulação de ar forçada até aproximadamente 10% de umidade, moídas e envasadas em recipientes plásticos hermeticamente fechados sendo identificadas e armazenadas a 25°C.

3.3.3 Tratamento com hipoclorito de sódio

A modificação oxidativa foi realizada de acordo com método descrito por Dias (2001), sendo que o amido foi disperso, na proporção de 2:1, em um béquer de 4L colocado em banho-maria em um recipiente de alumínio, mantido em placa de aquecimento e agitação. Após atingir a temperatura de 40°C adicionou-se o hipoclorito de sódio nas concentrações de 1% ou 2% (p/p amido b.s.) mantendo-se a agitação e o pH da dispersão em torno de 7,0 mediante adição de ácido clorídrico 1N e hidróxido de sódio 0,1N ao longo do período de 1h de reação. Transcorrido o tempo estipulado as amostras foram lavadas e filtradas por quatro vezes para retirada do reagente sendo secas em estufa com circulação de ar a 40°C até aproximadamente 10% de umidade. Após foram moídas e armazenadas em recipientes herméticos para avaliações posteriores.

3.4 Avaliações

3.4.1 Determinação de umidade

O conteúdo de umidade foi determinado em estufa, a 105 °C, até peso constante, segundo método nº 44-15A da AACCC (1995).

3.4.2 Determinação de amilose

O conteúdo de amilose foi determinado segundo método colorimétrico proposto por Martinez e Cuevas (1989), com adaptações. As amostras de amido de milho de 100 mg foram transferidas para balões de 100 mL, acrescentado 1mL de álcool etílico 96°GL e 9mL de solução 1N de NaOH. Os balões foram colocados em banho-maria por 10 min a 100°C, seguidos de resfriamento durante 30 min, até temperatura ambiente, completando-se o volume com água destilada. Foram retiradas alíquotas de 5mL e transferidas para balões de 100mL, sendo acrescentados 1mL de ácido acético 1N e 2mL de solução de iodo 2% (p/v), previamente preparada, ajustando-se o volume de cada balão com água destilada.

Para a elaboração da curva padrão foram utilizados 40mg de amilose pura (Sigma) submetida ao mesmo procedimento das amostras de amido de milho. Foram retiradas alíquotas de 1, 2, 3, 4, e 5mL do balão volumétrico e acrescidas de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1mL de ácido acético e de 0,4; 0,8; 1,2; 1,6 e 2mL da solução de iodo, respectivamente, completando o volume de cada balão com água destilada.

A leitura foi realizada a 610nm de absorvância (A), 30 min após a adição do iodo, sendo os resultados multiplicados pelo fator de correção (FC) foi obtido pela média dos valores lidos com as amostras de amilose pura. O teor de amilose das amostras foi calculado conforme equação 1.

$$\% \text{ Amilose} = A \times FC \quad \text{Eq. (1)}$$

3.4.3 Determinação de carbonila

A determinação do teor de carbonila foi realizada conforme método descrito por Smith (1967). Amostras de 4g de amido foram dispersas em 100mL de água destilada. As dispersões foram aquecidas em banho de água fervente durante 30min com agitação constante até a completa gelatinização do amido. As amostras gelatinizadas foram resfriadas a 40°C, ajustou-se o pH para 3,2 e adicionou-se 15mL de solução de cloreto de hidroxilamina. A seguir, as amostras foram seladas com parafilme e levadas à estufa a 38°C. Após 4h, procedeu-se a titulação com ácido clorídrico 0,1 N até pH 3,2.

O teor de carbonila foi expresso em quantidade de grupos carbonilas por 100 unidades de glicose (CO/100GU) e calculado através da equação 2.

$$\text{CO/100GU} = \frac{(V_{pb} - V_{am}) \times F \times 0,028 \times 100}{\text{Peso da amostra (b.s.)}} \quad \text{Eq. (2)}$$

Onde: V_{pb} = volume de HCl gasto na titulação da prova em branco (mL)

V_{am} = volume de HCl gasto na titulação da amostra (mL)

F = normalidade do HCl

A solução de hidroxilamina foi preparada mediante a dissolução de 25g de cloreto de hidroxilamina em água destilada, adicionando-se 100mL de hidróxido de sódio 0,5N e completando-se o volume do balão para 500mL. A solução foi preparada no dia da análise.

3.4.4 Determinação de carboxila

O teor de carboxila foi determinado segundo método descrito por Parovuori et al. (1995). Amostras de 5g de amido foram dispersos em 25 mL de água destilada. Procedeu-se a agitação por 30min, em seguida centrifugou-se a dispersão. O resíduo foi lavado com água destilada e transferido para um béquer. A seguir, adicionou-se 300mL de água destilada e aqueceu-se a dispersão em banho de água fervente com agitação contínua por 30 min até a completa gelatinização do amido. Com as amostras ainda quentes e sob agitação efetuou-se a titulação com hidróxido de sódio 0,01 N até pH 8,2.

O teor de carboxila foi expresso em quantidade de grupos carboxila em relação a 100 unidades de glicose (COOH/100GU) e calculado através da equação 3.

$$\text{COOH/100GU} = \frac{(\text{Vam} - \text{Vpb}) \times F \times 0,045 \times 100}{\text{Peso da amostra (b.s.)}} \quad \text{Eq. (3)}$$

Onde: Vpb = volume de NaOH gasto na titulação da prova em branco (mL)

Vam = volume de NaOH gasto na titulação da amostra (mL)

F = normalidade do NaOH

3.4.5 Características viscoamilográficas

As características viscoamilográficas dos amidos foram avaliadas com o analisador rápido de viscosidade (RVA- *Rapid Visco Analyser*), usando programa Thermocline for Windows versão 1.10. O perfil utilizado foi o *Standard Analysis 1*, cujos parâmetros são apresentados na Tabela 2. A quantidade de amostra utilizada para os testes foi de 3 g corrigidas para 14% de umidade. As características avaliadas foram:

- Temperatura de pasta: temperatura em °C, calculada com base no tempo de funcionamento do RVA (6°C/min); correspondente ao ponto onde se inicia a formação da curva;
- Viscosidade máxima: viscosidade máxima desenvolvida durante o período de aquecimento, expressa em RVU (Unidade de medida viscoamilográfica fornecida pelo Rapid Visco Analyser).
- Quebra: diferença de viscosidade entre o pico máximo e a viscosidade mínima a 95°C;
- Viscosidade mínima à temperatura constante (95°C): menor valor da viscosidade, após ter sido atingida a temperatura constante de 95°C, expressa em RVU.
- Viscosidade final: valor da viscosidade, obtido no ponto final do ciclo de resfriamento, à temperatura de 50°C expressa em RVU.
- Retrogradação: diferença de viscosidade mínima a 95°C e a viscosidade final, também chamado de *setback*.

Tabela 2. Programação do RVA utilizada nas análises viscoamilográficas

Tempo (hora: min: seg)	Tipo (temperatura/velocidade)	Valor (°C ou rpm)
00:00:00	Temperatura	50
00:00:00	Velocidade	960
00:00:10	Velocidade	160
00:01:00	Temperatura	50
00:04:42	Temperatura	95
00:07:12	Temperatura	95
00:11:00	Temperatura	50
Final do teste: 00:13:00		

3.4.6 Difração por raio-X

Os padrões de difração de raio-X foram obtidos com um difractômetro de raios X (XRD-6000, Shimadzu, Brasil). A região de varredura da difração variou de 5 a 30 °, com uma tensão de 30 Kv, uma corrente de 30 mA e uma velocidade de digitalização de 1 ° por minuto. O índice de cristalinidade relativa (IC) dos grânulos de amido foi

quantitativamente estimado de acordo com método proposto por Rabek (1980). O IC é definido como a razão entre a área da região cristalina (A_c) e a área total coberta pela curva ($A_c + A_a$), composta pela área da região cristalina (A_c) e a área da região amorfa (A_a), a partir da equação 5.

$$IC \% = \frac{A_c}{A_c + A_a} \times 100 \quad \text{Eq.(5)}$$

3.4.7 Poder de inchamento e solubilidade

O poder de inchamento e a solubilidade dos amidos de milho foram determinados de acordo com o método descrito por Leach et al. (1959). A determinação ocorreu mediante suspensão de 100 mg de amido (base úmida) em 50 mL de água destilada em tubos de centrífuga Falcon previamente tarados. A suspensão foi agitada e levada a banho-maria com agitação constante por 30 min nas temperaturas de 60 °C, 70 °C, 80 °C e 90 °C. Após os tubos foram resfriados à temperatura ambiente e centrifugados a 1000 g por 20 min. O sobrenadante foi coletado e levado à estufa a 105 °C até peso constante para a quantificação do amido solubilizado. O amido sedimentado no tubo de centrifuga foi pesado para determinação do poder de inchamento. Calculou-se a solubilidade através da relação entre a massa solúvel e a massa inicial de amido, expressa em porcentagem, sendo o poder de inchamento obtido pela relação entre a massa intumescida e a massa inicial de amido.

3.4.8 Suscetibilidade enzimática à α -amilase

As amostras de amido foram submetidas à hidrólise enzimática de acordo com o método descrito por Serrano e Franco (2005). A determinação ocorreu mediante suspensão de 10 g de amido (base seca) em 48,5 mL de solução tampão fosfato 0,2M, pH 6,0 em erlenmeyers de 200 mL. Em seguida adicionou-se 1 mL de solução (0,25% p/v) de enzima α -amilase bacteriana Sigma (A6380), com atividade declarada no rótulo, de 2150 unidades/mg de sólidos e 0,5 mL de solução de azida de sódio (10% p/v) para evitar crescimento bacteriano durante o período de incubação. As dispersões de amido foram incubadas em banho termostático com agitação constante, durante 48 horas a

37°C para determinar a porcentagem de hidrólise em peso. Após o período de incubação, as suspensões foram acidificadas a pH 3,0 com HCl 0,1N, agitadas durante 15 min, para inativação enzimática, neutralizadas com NaOH 0,1N e centrifugadas a 1000 g por 30 min. Os resíduos foram lavados com água destilada, filtrados em papel filtro de média porosidade e secos em estufa com circulação de ar a 40°C. Determinou-se o peso e a umidade dos resíduos secos para determinar a porcentagem de hidrólise (equação 4). Os resíduos secos foram moídos e armazenados em recipientes herméticamente fechados para posterior análise de microscopia eletrônica de varredura.

$$H (\%) = \frac{[PI - PA]}{PI} \times 100 \quad \text{Eq. (4)}$$

Onde:

H (%) = porcentagem de hidrólise;

PI = peso de amido inicial (g);

PA = peso de amido após hidrólise (g).

3.5 Análise estatística

As análises foram realizadas em triplicata. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Teor de amilose

Na Tabela 3 estão apresentados os teores de amilose dos amidos de milho modificados com tratamento alcalino, ácido e oxidativo.

Tabela 3. Teor de amilose de amido de milho modificado com tratamento alcalino, ácido e oxidativo.

Tratamento	Teor de amilose (%)
1	35,5 ± 0,2 ^{fg}
2	35,5 ± 0,2 ^{fg}
3	32,96 ± 0,3 ^{hi}
4	37,54 ± 0,2 ^{abcd}
5	36,38 ± 0,4 ^{def}
6	32,30 ± 0,1 ^{hi}
7	38,71 ± 0,5 ^a
8	35,48 ± 0,4 ^{fg}
9	28,93 ± 0,0 ^j
10	38,36 ± 0,1 ^{ab}
11	36,83 ± 0,1 ^{cde}
12	31,86 ± 0,6 ⁱ
13	38,49 ± 0,0 ^{ab}
14	35,78 ± 0,5 ^{efg}
15	31,9 ± 0,4 ⁱ
16	38,04 ± 0,1 ^{abc}
17	34,86 ± 0,2 ^g
18	31,86 ± 0,1 ⁱ
19	37,45 ± 0,0 ^{bcd}
20	35,32 ± 0,2 ^{fg}
21	33,26 ± 0,5 ^h
22	36,53 ± 0,1 ^{def}
23	35,78 ± 0,1 ^{efg}
24	32,41 ± 0,5 ^{hi}
25	37,47 ± 0,3 ^{bcd}
26	36,41 ± 0,1 ^{def}
27	32,55 ± 0,1 ^{hi}

* Letras diferentes na mesma coluna, diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

Os amidos de milho submetidos ao tratamento oxidativo na maior concentração de hipoclorito de sódio (2%), de forma isolada, ou combinada com os tratamentos ácido e alcalino apresentaram menor teor de amilose em comparação ao amido nativo (Tabela 3). Sandhu et al. (2008) também encontraram uma redução significativa no teor de amilose de 16,9 para 13,4% oxidando amido de milho com hipoclorito de sódio na concentração de 1%, pH 9,5 e temperatura de 35°C. De acordo com Sangseethong et al. (2009), o conteúdo de amilose desempenha um papel importante na eficiência de oxidação do amido. Segundo Kuakpetoon e Wang (2001), a amilose é amplamente distribuída na região amorfa do grânulo de amido, como a oxidação ocorre principalmente na região amorfa, a amilose está mais suscetível a oxidação.

Os tratamentos alcalino e ácido aumentaram o teor de amilose do amido de forma isolada, entretanto, não ocorreu uma intensificação desse efeito com a presença dos dois reagentes de forma combinada. O aumento no teor de amilose promovido pelo tratamento ácido pode ser atribuído à despolimerização das moléculas de amilose dando origem a algumas moléculas de alto peso molecular ainda capazes de se complexar com o iodo (KUAKPEToon e WANG, 2008) e/ou devido a amilopectina ser preferencialmente degradada e de forma mais rápida do que a amilose, com ação do ácido concentrada na região amorfa e conseqüentemente haver um aumento relativo da amilose como fração linear (CEREDA et al., 2003). No entanto, Nadiha et al. (2010) em estudo sobre o efeito do tratamento alcalino (0,1% por 30 dias) em amidos de sagu, batata e milho obtiveram uma redução no teor de amilose em comparação aos amidos nativos e eles atribuíram essa redução ao rompimento da região amorfa que contém cadeias de amilose. No entanto esses autores complementam que esses dados poderiam não fornecer a quantidade exata de teor de amilose reduzida pelo tratamento alcalino, pois o processo de lavagem pode remover o amido solubilizado, juntamente com o sobrenadante, e o amido solubilizado retirado pode conter amilose solubilizada.

4.2 Teor de carbonila e carboxila

Na Tabela 4 estão apresentados o teor de carbonila e de carboxila dos amidos de milho modificados com tratamento alcalino, ácido e oxidativo.

Tabela 4. Teor de carbonila e carboxila de amido de milho modificado com tratamento alcalino, ácido e oxidativo.

Tratamento	Carbonila (%)	Carboxila (%)	Somatório (%) (carbonila + carboxila)
1	0,019 ^j	0,067 ^g	0,086 ^l
2	0,086 ^g	0,075 ^d	0,161 ^{ef}
3	0,149 ^{bc}	0,091 ^b	0,240 ^b
4	0,016 ^j	0,039 ^m	0,055 ^{jl}
5	0,075 ⁱ	0,076 ^d	0,151 ^g
6	0,154 ^a	0,096 ^a	0,250 ^a
7	0,009 ^l	0,044 ^j	0,053 ^{jl}
8	0,092 ^f	0,072 ^e	0,164 ^e
9	0,155 ^a	0,090 ^b	0,245 ^a
10	0,017 ^j	0,030 ⁿ	0,047 ^m
11	0,078 ^{hi}	0,063 ⁱ	0,141 ^h
12	0,152 ^{ab}	0,095 ^a	0,247 ^a
13	0,009 ^l	0,041 ^l	0,050 ^{lm}
14	0,088 ^g	0,071 ^f	0,159 ^f
15	0,138 ^e	0,086 ^c	0,224 ^d
16	0,009 ^l	0,042 ^{jl}	0,051 ^{lm}
17	0,095 ^f	0,070 ^f	0,165 ^e
18	0,136 ^e	0,091 ^b	0,227 ^d
19	0,009 ^l	0,031 ⁿ	0,040 ⁿ
20	0,078 ^{hi}	0,065 ^{hi}	0,143 ^h
21	0,136 ^e	0,090 ^b	0,226 ^d
22	0,009 ^l	0,039 ^m	0,048 ^m
23	0,074 ⁱ	0,068 ^g	0,142 ^h
24	0,145 ^{cd}	0,092 ^b	0,237 ^{bc}
25	0,015 ^j	0,041 ^l	0,056 ^j
26	0,079 ^h	0,066 ^h	0,145 ^h
27	0,144 ^d	0,091 ^b	0,235 ^c

* Letras diferentes na mesma coluna, diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

Desvio padrão menor que 10^{-2} .

Observou-se um aumento gradual no teor de carbonila e carboxila à medida que houve o acréscimo na concentração de hipoclorito de sódio (0; 1 e 2%) (Tabela 4), estando de acordo com o encontrado por Li e Vasanthan (2003). Na reação de oxidação os grupos hidroxila das moléculas de amido são primeiramente oxidados a grupos carbonila e, posteriormente, a grupos carboxila. Portanto o número de grupos de carbonila e carboxila em amidos oxidados indicam o nível de oxidação (KUAKPETOON e WANG, 2008).

Os tratamentos alcalino e ácido quando combinados com o tratamento oxidativo não influenciaram no somatório do teor de carbonila e carboxila que variou de 0,086% para o amido nativo a 0,250% para o amido tratado com 2% de hipoclorito de sódio e 2% de ácido láctico. Porém, quando os amidos foram tratados somente com álcali e ácido, de forma isolada ou combinada (álcali e ácido) apresentaram teor de carbonila e carboxila inferiores ao amido nativo devido, provavelmente, a etapa de neutralização que antecede a lavagem desses amidos, que neutraliza parte das cargas dos grupamentos existentes.

O aumento do teor de carbonila e carboxila após tratamento oxidativo tem sido discutido por diversos autores (TAKIZAWA et al., 2004; SÁNCHEZ-RIVERA et al., 2005;; SANDHU et al., 2008). O teor de carboxila próximo a 0,09% foi encontrado nos tratamentos com maior concentração de hipoclorito de sódio (2%), os resultados estão de acordo com os encontrados por Chávez-Murillo et al. (2008) que oxidando amido de milho com hipoclorito de sódio na concentração de 1,5%, pH 9,5 e temperatura de 35°C encontrou o mesmo teor de carboxila de 0,09%. Para o teor de carbonila o maior valor encontrado foi de 0,155 para o amido oxidado com 2% de hipoclorito de sódio e 4% de ácido láctico resultados similares foram encontrados por Chávez-Murillo et al. (2008) que na oxidação de amido de milho com hipoclorito de sódio (3%) em pH 9,5 e temperatura de 35°C encontraram um teor de carbonila de 0,160%.

Segundo Sangseethong et al. (2009) o tipo e a quantidade de grupos funcionais formados nas moléculas de amido durante a oxidação dependerá do tempo de reação da temperatura e também do pH empregado. Os autores relatam que a oxidação de amido com hipoclorito de sódio é mais rápida em pH neutro, enquanto a taxa de reação diminui com o aumento da acidez ou alcalinidade. Condições alcalinas favorecem a formação de grupos carboxila enquanto meios ácidos favorecem a formação de grupos carbonila. No presente trabalho buscou-se a otimização mantendo o pH neutro durante a reação de

oxidação, sendo assim, houve tratamentos em que a formação de grupos carbonílicos foi maior que os carboxílicos e vice versa.

4.3 Propriedades de pasta

As propriedades de pasta e os perfis viscoamilográficos dos amidos de milho tratados com hidróxido de sódio, ácido láctico e hipoclorito de sódio em diferentes concentrações estão na Tabela 5 e nas Figuras 4, 5, 6, 7, 8 e 9. As propriedades de pasta são observadas pelas mudanças na viscosidade durante o aquecimento de uma suspensão de amido e refletem com precisão mudanças ocorridas na estrutura física e química do amido.

Observa-se que o tratamento alcalino de maneira isolada, (tratamento 10 e 19) reduziu a temperatura de pasta e aumentou a viscosidade máxima, quebra, viscosidade final e retrogradação dos amidos (Figura 4). Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Lai et al. (2004) que estudou as propriedades de pasta de amidos de cereais tratados com Na_2CO_3 e NaOH . A redução da temperatura de pasta de $78,5^\circ\text{C}$ para $72,5^\circ\text{C}$ significa que houve um enfraquecimento das ligações do amido promovido pelas modificações químicas, requerendo uma temperatura menor para gelatinizar os grânulos de amido (Tabela 5). O aumento da viscosidade máxima de 263,4 RVU para 288,0 RVU indica um maior poder de inchamento dos grânulos de amido, esse aumento pode ser resultado de um relaxamento da estrutura dos grânulos pelo hidróxido de sódio, facilitando a entrada de água, permitindo um maior intumescimento do grânulo. A quebra que variou de 72,1 RVU para 126,0 RVU indica a diferença entre a viscosidade máxima e a viscosidade mínima durante o aquecimento. Uma quebra maior indica a ruptura ou uma tendência menor do grânulo de resistir às forças de cisalhamento durante o aquecimento (KARIM et al., 2008).

O tratamento com ácido láctico apresentou pouco efeito sobre as propriedades de pastas do amido de milho (Figura 5). Nos tratamentos 4 e 7, ocorreu um aumento da viscosidade máxima, redução da temperatura de pasta e viscosidade mínima do amido de milho em relação ao amido nativo. Martinez-Bustos et al. (2007), que trataram amido de mandioca com ácidos orgânicos (láctico, acético e ácido cítrico), também encontraram uma redução na viscosidade mínima.

A oxidação do amido de milho promoveu modificações nas propriedades de pasta bem mais intensas do que o hidróxido de sódio e o ácido láctico, ocorrendo um aumento na

viscosidade máxima e da quebra e uma redução na temperatura de pasta e na viscosidade final (Figuras 6, 7 e 8). O aumento na viscosidade máxima do amido de milho submetido à oxidação de 263,4 RVU para 343,9 RVU, pode ser atribuído ao baixo grau de oxidação, promovendo apenas uma despolimerização parcial do amido e facilitando seu poder de inchamento (Vatanasuchart et al. 2005). De acordo com Xie et al. (2005), tem sido reportado que em baixos níveis de oxidação com hipoclorito de sódio ocorre um aumento na viscosidade de pasta. Kuakpetoon e Wang (2001) também reportaram uma redução na temperatura de pasta com o aumento na concentração de hipoclorito durante a oxidação para os amidos de batata, milho e arroz. O decréscimo na temperatura de pasta e o aumento da viscosidade máxima sugerem que os grânulos de amido oxidado possuem maior poder de inchamento devido às forças entre as moléculas de amido nativo terem sido enfraquecidas pela repulsão de cargas dos grupos carboxílicos introduzidos, sendo assim, mais água é capaz de entrar no grânulo.

Os maiores valores para quebra foram verificados nos amidos submetidos à maior concentração de oxidante (2% de hipoclorito de sódio) e deve-se ao enfraquecimento das forças associativas, o que reduz a resistência do grânulo ao atrito mecânico. A oxidação em baixa concentração de hipoclorito de sódio (1%) aumentou a retrogradação (109,5 RVU), no entanto quando oxidado com 2% de hipoclorito houve uma redução (45,3 RVU) em relação ao amido nativo (56,3 RVU). Segundo Sangseethong et al. (2009) a extensão na oxidação é mais pronunciada nos amidos oxidados com menor tempo de reação, indicando que o amido, com baixo grau de oxidação apresenta maior tendência a retrogradação. À medida que o grau de oxidação aumenta, a viscosidade de pasta parece ser mais estável. Eles complementam que a redução no tamanho molecular e o aumento do teor de carboxilas provavelmente são responsáveis pela menor tendência para a re-associação molecular nas amostras com maior grau de oxidação. Os radicais carbonílicos e carboxílicos são maiores do que a hidroxila, portanto eles podem aumentar o espaço entre as cadeias de amilose, evitando a aproximação das moléculas e diminuindo a retrogradação. Jacobs et al. (1995) têm mostrado que a capacidade de retrogradação é influenciada pela quantidade de amilose lixiviada, pelo tamanho dos grânulos e pela presença de grânulos inchados desfragmentados e rígidos na rede de amilose lixiviada.

Analisando a Tabela 5 e a Figura 9 observa-se que há um decréscimo significativo para temperatura de pasta, viscosidade máxima, mínima e final e também na retrogradação do tratamento 27, que apresentou os menores valores para estas variáveis entre os tratamentos estudados. Este resultado indica que quando os níveis dos

reagentes são maiores, ocorre um aumento da interação entre os tratamentos alcalino, ácido e oxidativo, promovendo uma clivagem parcial das ligações glicosídicas resultando em uma diminuição do peso molecular, tornando menos resistente ao cisalhamento podendo não manter a integridade do grânulo.

Tabela 5. Propriedades de pasta dos amidos de milho modificados pelos tratamentos alcalino, ácido e oxidativo.

Tratamento	Temperatura de pasta (°C)	Viscosidade máxima (RVU)	Viscosidade mínima (RVU)	Quebra (RVU)	Viscosidade final (RVU)	Retrogradação (RVU)
1	78,5 ± 0,1 ^a	263,4 ± 0,1 ^{lm}	191,3 ± 1,2 ^a	72,1 ± 1,1 ^o	247,5 ± 0,8 ^e	56,3 ± 2,0 ^{jl}
2	70,5 ± 1,1 ^{fg hij}	302,0 ± 3,1 ^f	127,9 ± 1,6 ^e	174,2 ± 4,7 ^{ij}	237,4 ± 0,3 ^f	109,5 ± 1,2 ^{cde}
3	69,2 ± 0,4 ^{jlm}	343,9 ± 2,3 ^c	65,0 ± 1,1 ^j	279,0 ± 1,2 ^c	110,3 ± 0,8 ^o	45,3 ± 2,0 ^m
4	72,5 ± 0,2 ^{cde}	285,5 ± 0,7 ^{gh}	158,4 ± 1,8 ^c	127,1 ± 1,1 ^l	267,9 ± 2,1 ^{cd}	109,5 ± 4,0 ^{cde}
5	71,4 ± 0,0 ^{def}	304,3 ± 2,4 ^{ef}	115,1 ± 2,4 ^f	189,2 ± 0,1 ^h	204,8 ± 2,8 ^g	89,6 ± 0,3 ^{gh}
6	68,6 ± 0,0 ^{lm}	370,5 ± 3,4 ^b	60,0 ± 1,7 ^{jlm}	310,5 ± 1,6 ^b	105,6 ± 5,4 ^{op}	45,6 ± 3,6 ^m
7	73,6 ± 0,9 ^{bc}	278,3 ± 5,8 ^{hij}	168,2 ± 1,5 ^b	110,2 ± 7,3 ^m	264,9 ± 7,2 ^d	96,7 ± 8,7 ^{fg}
8	69,5 ± 0,0 ^{hijl}	318,7 ± 2,5 ^d	103,8 ± 2,1 ^{gh}	214,9 ± 0,4 ^f	202,8 ± 3,3 ^{gh}	99,0 ± 1,2 ^{efg}
9	68,0 ± 0,1 ^m	381,4 ± 0,3 ^a	55,9 ± 1,5 ^{lm}	325,5 ± 1,8 ^a	101,1 ± 4,2 ^{pq}	45,2 ± 2,7 ^m
10	72,4 ± 0,4 ^{cde}	277,3 ± 1,3 ^{ij}	150,6 ± 0,5 ^d	126,7 ± 0,8 ^l	279,9 ± 1,1 ^{ab}	129,3 ± 0,6 ^a
11	70,9 ± 0,5 ^{fgh}	285,5 ± 0,3 ^{gh}	98,6 ± 2,3 ^h	186,9 ± 2,0 ^h	181,5 ± 1,7 ^j	82,9 ± 0,6 ^h
12	71,3 ± 0,1 ^{efg}	310,6 ± 4,5 ^e	56,7 ± 0,3 ^{lm}	253,9 ± 4,8 ^d	103,4 ± 1,8 ^{op}	46,8 ± 2,1 ^{lm}
13	73,9 ± 0,2 ^b	257,8 ± 0,6 ^m	156,5 ± 0,7 ^{cd}	101,4 ± 0,1 ⁿ	269,0 ± 2,3 ^{cd}	112,6 ± 1,6 ^{cd}
14	70,4 ± 0,5 ^{fg hij}	290,5 ± 1,3 ^g	86,7 ± 2,7 ⁱ	203,9 ± 1,4 ^g	158,9 ± 0,4 ^m	72,2 ± 2,2 ⁱ
15	70,3 ± 0,8 ^{fg hij}	292,3 ± 4,4 ^g	59,4 ± 1,7 ^{jlm}	232,9 ± 2,6 ^e	102,4 ± 0,2 ^{op}	42,9 ± 1,5 ^m
16	73,7 ± 0,1 ^{bc}	261,9 ± 1,0 ^m	159,1 ± 4,7 ^c	102,8 ± 3,7 ^{mn}	268,8 ± 1,2 ^{cd}	109,8 ± 6,0 ^{cd}
17	70,5 ± 0,2 ^{fg hij}	289,9 ± 1,1 ^g	86,3 ± 0,5 ⁱ	203,6 ± 0,5 ^g	167,7 ± 3,0 ^l	81,4 ± 3,5 ^{hi}
18	69,7 ± 0,6 ^{hijl}	309,9 ± 4,0 ^{ef}	61,5 ± 0,8 ^{jl}	248,5 ± 3,1 ^d	120,3 ± 0,3 ⁿ	58,8 ± 0,5 ^j
19	72,5 ± 0,2 ^{cde}	288,0 ± 1,0 ^g	162,0 ± 1,2 ^c	126,0 ± 2,2 ^l	277,8 ± 1,0 ^{ab}	115,9 ± 0,1 ^{bc}
20	69,9 ± 0,0 ^{ghijl}	278,3 ± 1,6 ^{hi}	106,5 ± 1,6 ^g	171,8 ± 3,2 ^j	195,7 ± 0,1 ^{hi}	89,2 ± 1,5 ^{gh}
21	70,6 ± 0,3 ^{fghi}	261,7 ± 2,2 ^m	54,5 ± 2,2 ^m	207,2 ± 0,1 ^{fg}	93,2 ± 3,3 ^{qr}	38,8 ± 1,1 ^m
22	73,6 ± 0,6 ^{bc}	270,4 ± 0,4 ^{jl}	169,5 ± 3,0 ^b	100,9 ± 2,6 ⁿ	273,8 ± 2,4 ^{bc}	104,2 ± 5,4 ^{def}
23	69,9 ± 0,2 ^{fg hijl}	277,1 ± 2,6 ^{ij}	101,8 ± 1,6 ^{gh}	175,3 ± 4,3 ^{ij}	192,0 ± 2,2 ⁱ	90,3 ± 3,8 ^{gh}
24	70,3 ± 0,1 ^{fg hij}	265,0 ± 2,3 ^{lm}	56,2 ± 0,8 ^{lm}	208,8 ± 1,5 ^{fg}	92,5 ± 3,3 ^r	36,3 ± 4,2 ^m
25	72,7 ± 0,1 ^{bcd}	277,9 ± 0,3 ^{hij}	157,8 ± 1,2 ^c	120,2 ± 1,5 ^l	283,9 ± 0,5 ^a	126,2 ± 1,8 ^{ab}
26	70,3 ± 0,4 ^{fg hij}	277,1 ± 2,7 ^{ij}	103,8 ± 2,8 ^{gh}	173,3 ± 0,1 ^{ij}	197,4 ± 1,3 ^{ghi}	93,6 ± 4,2 ^g
27	69,3 ± 0,5 ^{jlm}	229,1 ± 0,6 ⁿ	47,7 ± 1,3 ⁿ	181,5 ± 0,6 ^{hi}	85,2 ± 3 ^r	37,5 ± 4,3 ^m

* Letras diferentes na mesma coluna, diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

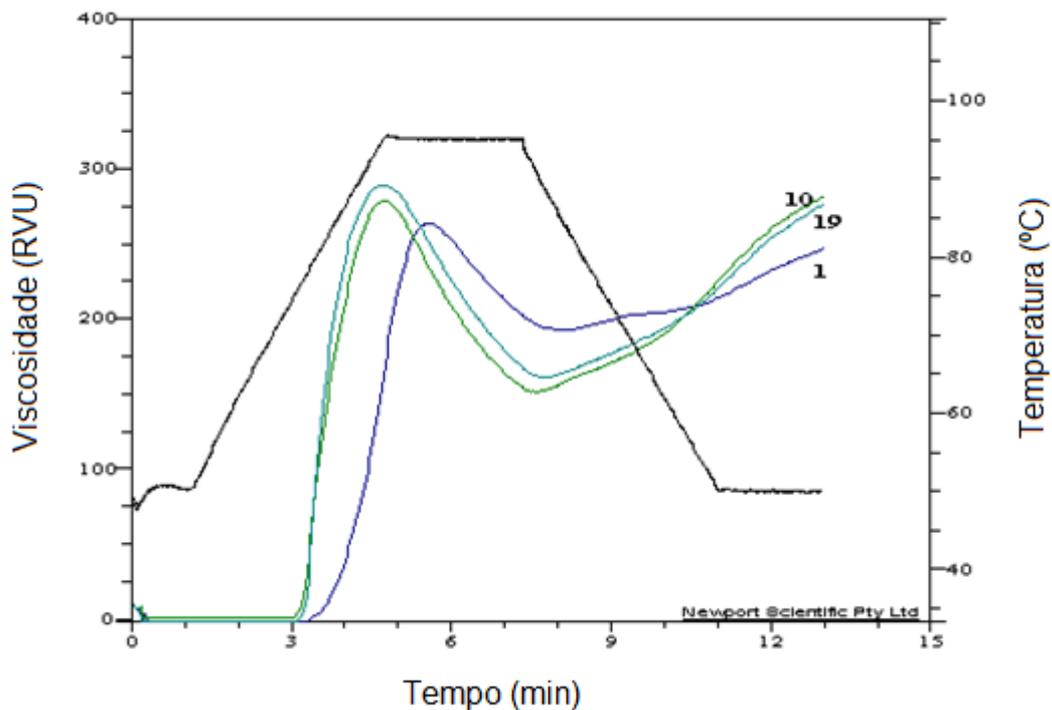


Figura 4. Efeito do tratamento alcalino em diferentes concentrações sobre as propriedades de pasta de amido de milho; (1) nativo, (10) 0,09% de hidróxido de sódio, (19) 0,18% hidróxido de sódio.

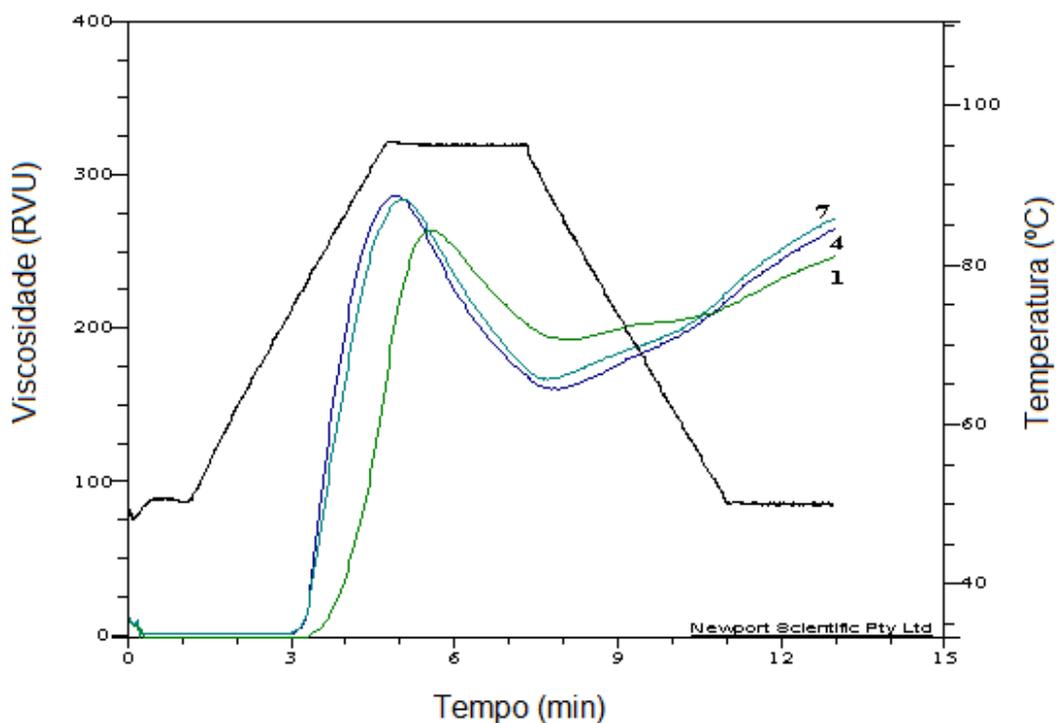


Figura 5. Efeito do tratamento ácido em diferentes concentrações sobre as propriedades de pasta de amido de milho; (1) nativo, (4) 2% de ácido láctico, (7) 4% ácido láctico.

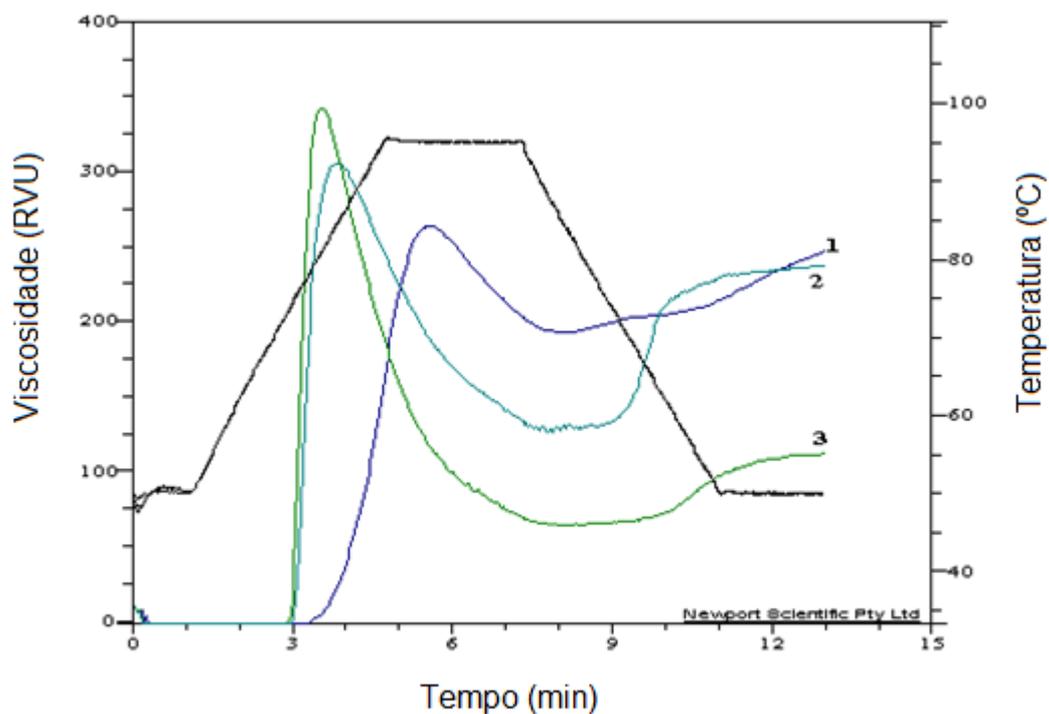


Figura 6. Efeito do tratamento oxidativo em diferentes concentrações sobre as propriedades de pasta de amido de milho. (1) nativo, (2) 1% de hipoclorito de sódio, (3) 2% hipoclorito de sódio.

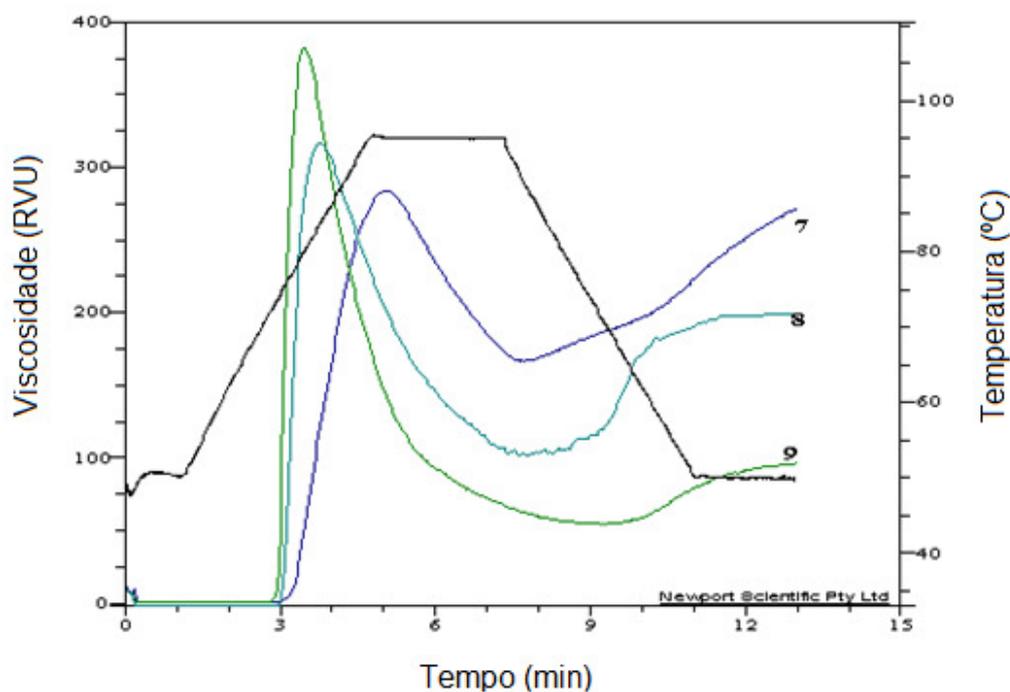


Figura 7. Efeito da interação entre o tratamento ácido e o tratamento oxidativo em diferentes concentrações sobre as propriedades de pasta de amido de milho, (7) 4% ácido láctico, (8) 4% ácido láctico e 1% hipoclorito de sódio, (9) 4% ácido láctico e 2% hipoclorito de sódio.

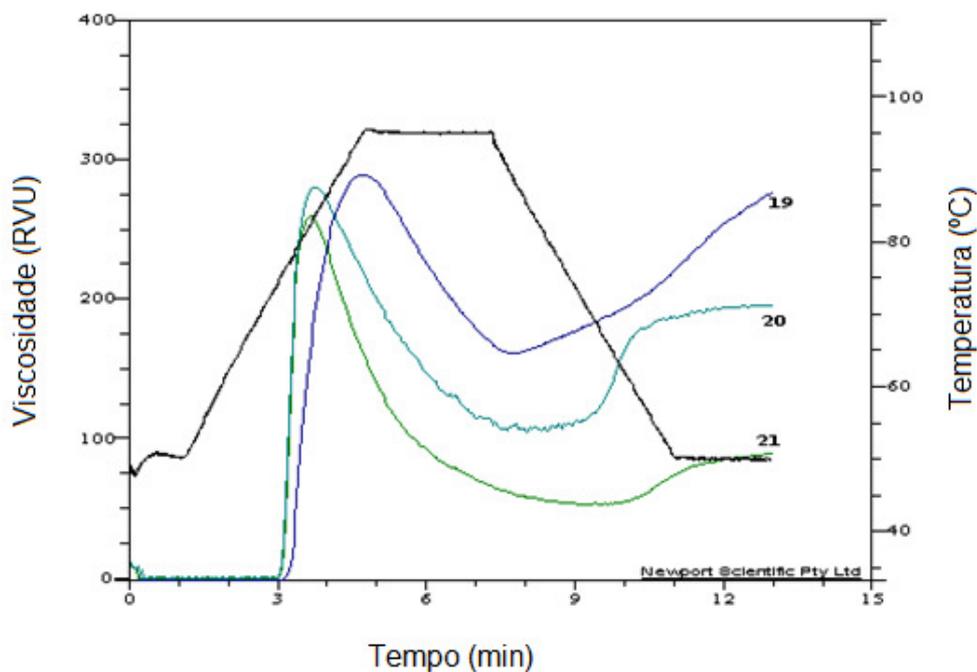


Figura 8. Efeito da interação entre o tratamento alcalino e o tratamento oxidativo sobre as propriedades de pasta de amido de milho; (19) 0,18% de hidróxido de sódio, (20) 0,18% de hidróxido de sódio e 1% hipoclorito de sódio, (21) 0,18% de hidróxido de sódio e 2% hipoclorito de sódio.

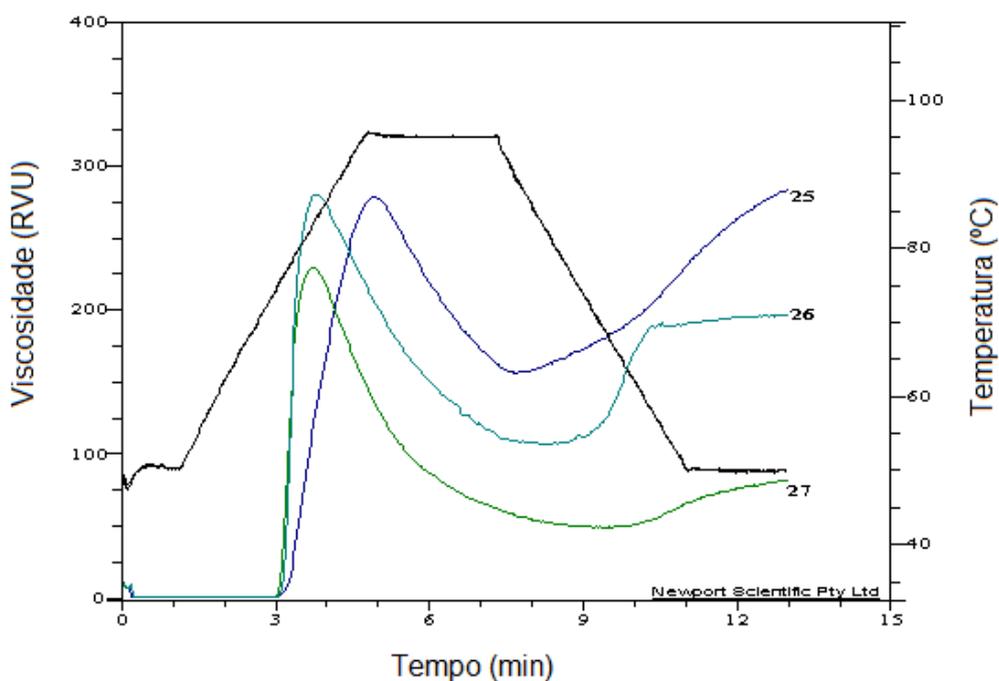


Figura 9. Efeito da interação entre o tratamento alcalino, tratamento ácido e tratamento oxidativo sobre as propriedades de pasta de amido de milho; (25) 0,18% de hidróxido de sódio e 4% de ácido láctico, (26) 0,18% de hidróxido de sódio, 4% de ácido láctico e 1% hipoclorito de sódio, (27) 0,18% de hidróxido de sódio, 4% de ácido láctico e 2% hipoclorito de sódio.

4.4 Difração de raio-X

Os difractogramas de raio-X dos amidos de milho modificados quimicamente estão nas Figuras 10, 11, 12 e 13 e seus respectivos picos de cristalinidade e cristalinidade relativa na Tabela 6.

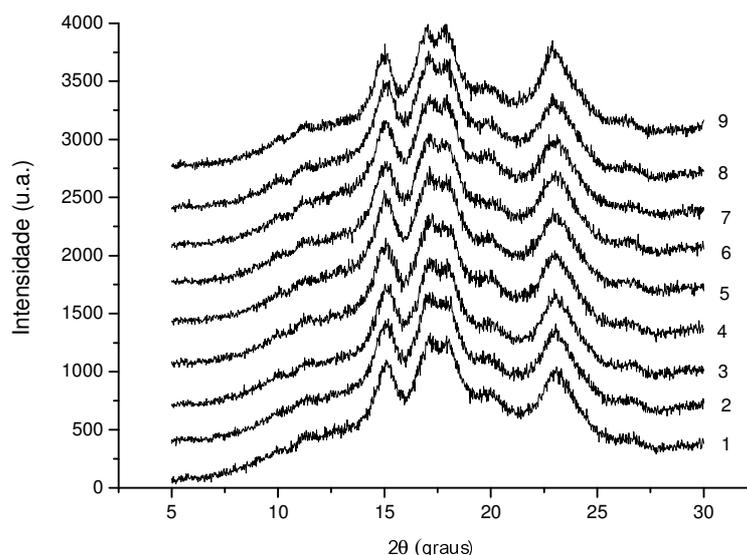


Figura 10. Difractograma de raio-X dos amidos de milho modificados quimicamente com ácido láctico e hipoclorito de sódio em diferentes concentrações.

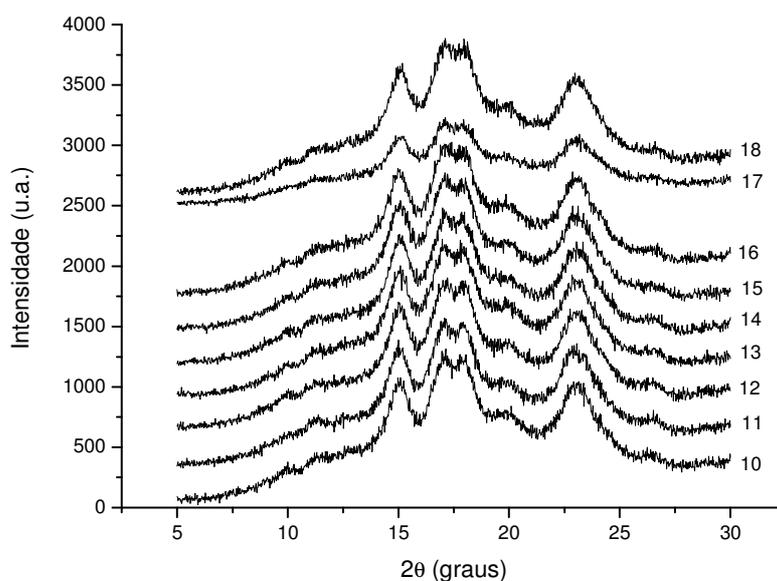


Figura 11. Difractograma de raio-X dos amidos de milho modificados quimicamente com hidróxido de sódio (0,09%), ácido láctico e hipoclorito de sódio em diferentes concentrações.

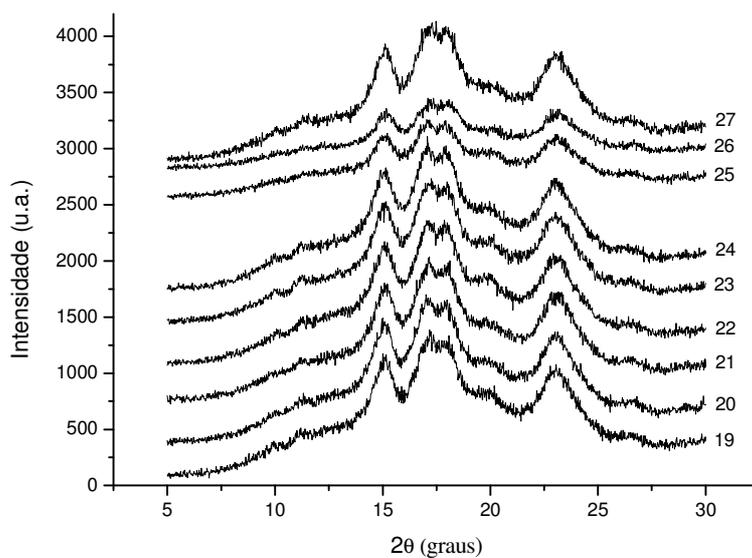


Figura 12. Difractograma de raio-X dos amidos de milho modificados quimicamente com hidróxido de sódio (0,18%), ácido láctico e hipoclorito de sódio em diferentes concentrações.

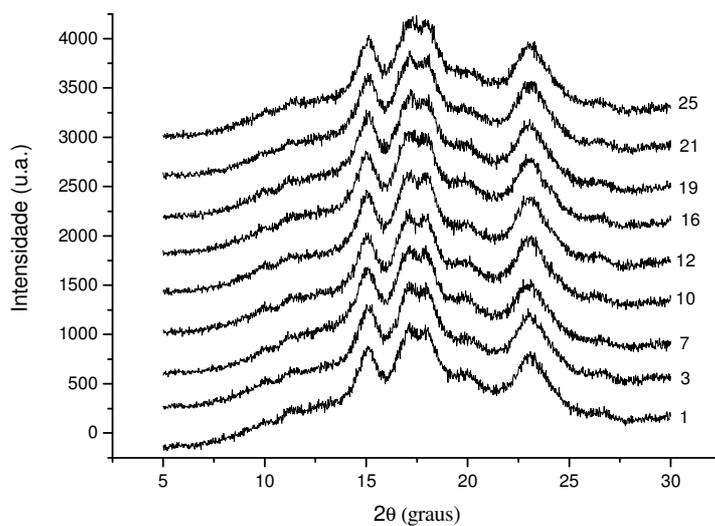


Figura 13. Difractograma de raio-X dos amidos de milho modificados quimicamente avaliando o efeito dos tratamentos alcalino ácido e oxidativo e suas interações.

Tabela 6. Intensidade dos picos e cristalinidade relativa de amidos de milho modificados com tratamento alcalino, ácido e oxidativo.

Tratamento	Intensidade dos picos (CPS) ^a					CR (%) ^b
	1	2	3	4	5	
1	1264	1498	1470	1040	1208	37,45
2	1288	1514	1480	1014	1242	39,00
3	1260	1508	1484	914	1238	38,05
4	1318	1526	1440	994	1208	40,73
5	1356	1566	1474	980	1206	37,65
6	1266	1508	1466	1006	1184	39,55
7	1302	1522	1450	1038	1180	35,51
8	1324	1574	1476	1014	1208	39,15
9	1280	1452	1434	940	1312	39,53
10	1250	1486	1442	1012	1218	40,55
11	1262	1444	1406	946	1232	39,50
12	1276	1478	1406	1016	1218	40,07
13	1304	1522	1438	1032	1228	36,08
14	1304	1520	1408	1036	1240	37,53
15	1290	1520	1430	1022	1246	36,46
16	1274	1490	1432	1006	1242	37,09
17	678	828	792	536	688	43,94
18	1300	1506	1478	1030	1220	36,87
19	1322	1532	1442	1078	1226	38,17
20	1332	1542	1460	1004	1210	39,90
21	1270	1502	1400	1046	1192	39,27
22	1320	1408	1514	1022	1216	36,07
23	1298	1504	1420	998	1204	39,12
24	1306	1582	1464	1004	1212	37,96
25	686	808	770	560	678	43,16
26	632	722	708	488	628	43,47
27	1270	1472	1388	1012	1206	39,09

^a CPS: Contagem por segundo

^b CR : Cristalinidade relativa

Os padrões de raio-X apresentados, indicaram fortes picos em 15°, 17°, 18° e 23° (2 θ) que são característicos de amidos, tipo A, de cereais (Figuras 10, 11, 12 e 13). Os tratamentos 17 (0,09% - alcalino, 4% - ácido e 1,0% - oxidação), 25 (0,18% - alcalino, 4% - ácido e 0% - oxidação) e 26 (0,18% - alcalino, 4% - ácido e 1,0% - oxidação) apresentaram os maiores valores de cristalinidade relativa, observa-se, portanto, que a

interação entre os tratamentos alcalino e ácido afetou a cristalinidade do amido de milho. Lawal et al. (2005) justificam que o aumento na cristalinidade promovida pelo tratamento ácido é devido a hidrólise ácida das cadeias de amido na região amorfa que permite uma reorganização dos segmentos das cadeias para formar uma estrutura mais cristalina. A cristalinidade relativa é calculada com base na área total e na área amorfa, uma diminuição significativa na área amorfa resulta então, no aumento da cristalinidade relativa.

A modificação com hipoclorito de sódio, de forma isolada, não influenciou nos resultados de cristalinidade relativa (Tabela 6). Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Kuakpetoon e Wang (2001) que estudaram o efeito da oxidação de amidos de milho batata e arroz com hipoclorito de sódio nas concentrações de 0,8 e 2%. Chávez-Murillo et al. (2008) relataram que uma ligeira diminuição na cristalinidade foi observada para o amido de milho quando a concentração do agente oxidante (NaOCl) foi aumentada para 5%, porém, o mesmo não foi observado para o amido de cevada.

Comparando os tratamentos 17 e 18, observa-se na concentração de 1% de hipoclorito um aumento na cristalinidade relativa enquanto na concentração de 2% houve uma ligeira redução. Estes resultados estão de acordo com Kuakpetoon e Wang (2006) que encontraram um aumento na cristalinidade relativa de amido de milho após tratamento oxidativo com 0,8% de hipoclorito de sódio, porém ocorreu um decréscimo quando a concentração de hipoclorito aumentou para 2 e 5%. O aumento da cristalinidade relativa com 0,8% de NaOCl é justificado provavelmente pela ocorrência da oxidação somente na região amorfa do grânulo com degradação das moléculas de amilose. Porém quando a concentração de hipoclorito é aumentada para 2 e 5%, a redução da cristalinidade relativa foi devido a provável degradação da região cristalina.

4.5 Poder de inchamento e solubilidade

O poder de inchamento e a solubilidade são determinados em temperaturas elevadas, promovendo a quebra de pontes de hidrogênio, ocorrendo o intumescimento dos grânulos e aumento da solubilidade do amido. Na Tabela 7 estão apresentados os resultados de solubilidade e poder de inchamento dos amidos de milho modificados pelo tratamento alcalino, ácido e oxidativo.

Tabela 7. Poder de inchamento e solubilidade dos amidos de milho modificados pelos tratamentos alcalino, ácido e oxidativo.

Trat	60°C		70°C		80°C		90°C	
	PI (g/g)	SOL (%)	PI (g/g)	SOL (%)	PI (g/g)	SOL (%)	PI (g/g)	SOL (%)
1	2,16 ± 0,0 ^d	0,09 ± 0,0 ^l	6,91 ± 0,0 ^l	1,47 ± 0,1 ^{hij}	8,89 ± 0,2 ^{defgh}	1,71 ± 0,1 ^{mnop}	11,92 ± 0,1 ^{bcd}	2,33 ± 0,1 ^m
2	2,25 ± 0,1 ^{bcd}	0,48 ± 0,1 ^{ij}	8,60 ± 0,1 ^{cde}	3,40 ± 0,2 ^{defg}	10,17 ± 0,4 ^b	3,81 ± 0,1 ^{ghi}	12,92 ± 0,2 ^{abc}	8,10 ± 0,3 ^{ef}
3	2,32 ± 0,1 ^{abcd}	1,30 ± 0,2	8,75 ± 0,1 ^{bcd}	4,08 ± 0,1 ^{bcd}	8,43 ± 0,2 ^{ghi}	9,2 ± 0,2 ^a	8,62 ± 0,7 ^{jlmn}	15,60 ± 0,2 ^a
4	2,18 ± 0,1 ^{cd}	0,14 ± 0,1 ^{jl}	7,78 ± 0,0 ^{fgh}	1,91 ± 0,3 ^{hi}	9,45 ± 0,2 ^{bcdef}	1,96 ± 0,2 ^{mnop}	11,69 ± 0,5 ^{bcde}	3,36 ± 0,2 ^{lm}
5	2,23 ± 0,1 ^{bcd}	0,40 ± 0,2 ^{ijl}	8,29 ± 0,1 ^{def}	3,02 ± 0,2 ^{fg}	11,21 ± 0,1 ^a	4,97 ± 0,2 ^{def}	11,04 ± 0,2 ^{defgh}	7,57 ± 0,2 ^{fgh}
6	2,40 ± 0,1 ^{abcd}	1,36 ± 0,2 ^{ef}	8,83 ± 0,4 ^{bcde}	3,86 ± 0,2 ^{cde}	8,10 ± 0,4 ^{ij}	7,14 ± 0,5 ^c	6,72 ± 0,2 ^o	7,35 ± 0,5 ^{fgh}
7	2,27 ± 0,1 ^{bcd}	0,46 ± 0,1 ^{ijl}	7,33 ± 0,1 ^{hijl}	1,79 ± 0,2 ^{hij}	9,18 ± 0,3 ^{cdefg}	1,41 ± 0,1 ^p	14,40 ± 0,6 ^a	5,50 ± 0,4 ^{hij}
8	2,37 ± 0,1 ^{abcd}	0,59 ± 0,1 ^{hi}	8,67 ± 0,2 ^{bcd}	4,00 ± 0,3 ^{cd}	9,43 ± 0,1 ^{bcdef}	2,70 ± 0,0 ^{jlm}	9,60 ± 0,1 ^{fghijl}	5,61 ± 0,4 ^{hij}
9	2,39 ± 0,1 ^{abcd}	1,82 ± 0,1 ^{cd}	9,51 ± 0,3 ^a	5,44 ± 0,2 ^a	7,49 ± 0,1 ^{jl}	8,59 ± 0,4 ^{ab}	7,35 ± 0,5 ^{mno}	11,39 ± 1,4
10	2,45 ± 0,0 ^{abcd}	0,61 ± 0,1 ^{hi}	8,05 ± 0,1 ^{efg}	1,75 ± 0,2 ^{hij}	9,53 ± 0,2 ^{bcde}	1,71 ± 0,1 ^{mnop}	9,97 ± 0,5 ^{efghij}	2,58 ± 0,2 ^m
11	2,46 ± 0,1 ^{abcd}	1,33 ± 0,2 ^{ef}	9,22 ± 0,1 ^{ab}	3,82 ± 0,3 ^{cde}	8,73 ± 0,2 ^{fghi}	2,63 ± 0,1 ^{jlmn}	8,88 ± 0,1 ^{ijlm}	4,93 ± 0,6 ^{ijl}
12	2,52 ± 0,1 ^{ab}	2,78 ± 0,2 ^a	8,99 ± 0,3 ^{abc}	4,78 ± 0,3 ^{ab}	6,68 ± 0,1 ^m	4,71 ± 0,4 ^{efg}	6,94 ± 0,2 ^{no}	9,85 ± 0,3 ^{cde}
13	2,63 ± 0,0 ^a	0,44 ± 0,2 ^{ijl}	8,69 ± 0,1 ^{cde}	2,05 ± 0,3 ^h	8,83 ± 0,1 ^{efghi}	1,54 ± 0,1 ^{op}	10,51 ± 0,8 ^{defghi}	2,16 ± 0,6 ^m
14	2,46 ± 0,0 ^{abcd}	1,47 ± 0,1 ^{de}	8,78 ± 0,2 ^{bcd}	3,74 ± 0,2 ^{def}	8,12 ± 0,1 ^{ij}	2,54 ± 0,0 ^{jlmno}	9,25 ± 0,1 ^{hijl}	8,93 ± 0,2 ^{ef}
15	2,35 ± 0,1 ^{abcd}	2,36 ± 0,1 ^b	7,58 ± 0,3 ^{ghi}	3,46 ± 0,4 ^{defg}	7,17 ± 0,1 ^{lm}	4,33 ± 0,2 ^{fgh}	6,82 ± 0,2 ^{no}	9,33 ± 1,0 ^{def}
16	2,61 ± 0,1 ^a	0,67 ± 0,1 ^{hi}	7,79 ± 0,2 ^{fgh}	1,75 ± 0,2 ^{hij}	8,98 ± 0,4 ^{cdefg}	1,78 ± 0,0 ^{mnop}	10,32 ± 0,3 ^{defghij}	2,94 ± 0,7 ^{lm}
17	2,44 ± 0,0 ^{abcd}	1,57 ± 0,0 ^{de}	8,66 ± 0,3 ^{bcde}	3,12 ± 0,2 ^{efg}	8,79 ± 0,2 ^{efghi}	4,21 ± 0,2 ^{fgh}	9,34 ± 0,3 ^{ghijl}	9,18 ± 0,2 ^{ef}
18	2,40 ± 0,1 ^{abcd}	1,96 ± 0,1 ^c	8,92 ± 0,2 ^{abc}	4,52 ± 0,1 ^{bc}	7,31 ± 0,2 ^{lm}	8,04 ± 0,3 ^{bc}	7,29 ± 0,3 ^{mno}	13,45 ± 0,7 ^b
19	2,46 ± 0,1 ^{abc}	0,68 ± 0,1 ^{hi}	7,71 ± 0,2 ^{fghi}	1,39 ± 0,3 ^{hij}	9,72 ± 0,3 ^{bc}	2,28 ± 0,3 ^{lmnop}	11,34 ± 1,4 ^{cdef}	3,88 ± 1,0 ^{jlm}
20	2,51 ± 0,1 ^{ab}	1,27 ± 0,1	7,59 ± 0,2 ^{ghi}	1,76 ± 0,3 ^{hij}	11,24 ± 0,4 ^a	5,82 ± 0,3 ^d	13,29 ± 0,2 ^{ab}	9,72 ± 1,1 ^{cde}
21	2,52 ± 0,0 ^{ab}	2,76 ± 0,2 ^a	6,97 ± 0,1 ^{jl}	3,54 ± 0,3 ^{defg}	8,21 ± 0,3 ^{hij}	7,90 ± 0,5 ^{bc}	8,06 ± 1,1 ^{lmno}	7,91 ± 1,1 ^{efg}
22	2,46 ± 0,3 ^{abcd}	0,47 ± 0,1 ^{ijl}	7,31 ± 0,1 ^{hijl}	1,16 ± 0,3 ^j	9,30 ± 0,3 ^{cdef}	1,61 ± 0,3 ^{nop}	11,10 ± 0,7 ^{cdefg}	2,97 ± 0,3 ^{lm}
23	2,38 ± 0,1 ^{abcd}	0,94 ± 0,2 ^{gh}	7,68 ± 0,1 ^{ghi}	2,92 ± 0,1 ^g	9,40 ± 0,2 ^{cdef}	3,06 ± 0,1 ^{ijl}	9,42 ± 0,2 ^{ghijl}	5,96 ± 0,6 ^{ghi}
24	2,45 ± 0,1 ^{abcd}	1,84 ± 0,2 ^{cd}	7,10 ± 0,2 ^{ijl}	2,93 ± 0,1 ^g	8,11 ± 0,1 ^{ij}	8,30 ± 0,1 ^{ab}	7,23 ± 0,5 ^{mno}	13,06 ± 0,6 ^b
25	2,63 ± 0,0 ^a	0,54 ± 0,1 ⁱ	7,54 ± 0,2 ^{ghij}	1,28 ± 0,1 ^{ij}	9,30 ± 0,2 ^{cdef}	1,68 ± 0,2 ^{mnop}	11,81 ± 1,0 ^{bcde}	3,56 ± 0,1 ^{jlm}
26	2,46 ± 0,1 ^{abc}	1,09 ± 0,1 ^{fg}	7,95 ± 0,2 ^{fg}	3,73 ± 0,2 ^{def}	9,62 ± 0,1 ^{bcd}	3,58 ± 0,2 ^{hij}	10,93 ± 0,9 ^{defgh}	8,96 ± 0,8 ^{ef}
27	2,50 ± 0,1 ^{ab}	2,61 ± 0,1 ^{ab}	6,87 ± 0,3 ^l	3,04 ± 0,4 ^{fg}	7,33 ± 0,3 ^{lm}	5,61 ± 0,8 ^{de}	6,96 ± 0,3 ^{no}	11,60 ± 0,7

* Letras diferentes na mesma coluna, diferem estatisticamente (p < 0,05). Trat: tratamento; PI : poder de inchamento; SOL: solubilidade

O poder de inchamento dos grânulos de amidos aumentou com o acréscimo da temperatura (Tabela 7) e variou de 2,16% para o amido nativo à 60 °C a 14,40% para o tratamento 7 à 90 °C. Quando a temperatura de uma suspensão de amido supera o limite de gelatinização, as pontes de hidrogênio são rompidas, as moléculas de água se ligam aos grupos hidroxilas liberados e os grânulos continuam intumescendo (LIMBERGER et al., 2008). De acordo com Lawal et al. (2005), o aumento do poder de inchamento com a temperatura é resultado do aumento na mobilidade das moléculas de amido, que facilitam a entrada de água e conseqüentemente aumentam o intumescimento e a solubilidade.

A oxidação aumentou a solubilidade do amido de milho em todas as temperaturas avaliadas (60 °C, 70 °C, 80 °C e 90 °C), porém, reduziu o poder de inchamento quando submetido à 90 °C na maior concentração de NaOCL (2%) e quando submetido ao tratamento ácido seguido do oxidativo a partir de 80 °C (tratamentos 4 a 9). Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Lawal et al. (2005) que ao estudar o efeito da modificação ácida e oxidativa em amido de milho constataram uma redução no poder de inchamento e um aumento na solubilidade promovida por estas modificações químicas em comparação ao amido não modificado. Esses autores atribuem a redução do poder de inchamento após oxidação a uma desintegração estrutural dentro do grânulo de amido durante o processo de modificação. O aumento da solubilidade pela modificação ácida seguida de oxidativa foi justificada pela despolimerização e enfraquecimento do grânulo de amido.

Segundo Wang e Wang (2003), a oxidação de amido de milho aumentou o poder de inchamento em temperaturas de 75 e 85 °C, no entanto reduziu quando tratado a 95 °C. Esses autores relatam que quando a amilose é preferencialmente hidrolisada, em baixas concentrações de hipoclorito de sódio, o aumento do poder de inchamento nas temperaturas de incubação de 75 e 85 °C deve-se a despolimerização da amilose que auxilia no inchamento do amido. No entanto, em maiores concentrações de oxidante em que a amilopectina é também hidrolisada, o amido perde a habilidade de absorver água, reduzindo o poder de inchamento principalmente em temperaturas extremas como 95 °C. Eles evidenciam que o inchamento do amido é controlado tanto pela amilose quanto pela amilopectina.

Kuakpetoon e Wang (2008) oxidando amido de milho ceroso, normal, 50% de amilose e 70% de amilose encontraram valores de solubilidade à 85 °C de 52,7%;

29,2%; 6,5%; 4,3%, respectivamente. Para o poder de inchamento os resultados foram de 48,9%; 23,0%; 11,2% e 7%, respectivamente. Comparando os amidos com diferentes teores de amilose, percebe-se que o poder de inchamento do amido de baixa amilose é superior aos amidos de média e de alta amilose. Este comportamento está de acordo com Moorthy (2002) que encontrou uma correlação inversa entre o teor de amilose e o poder de inchamento em estudo sobre propriedades de amido de raízes tropicais, demonstrando que um dos fatores que interferem no intumescimento do amido é o conteúdo de amilose, pois alta quantidade de amilose reduz o poder de inchamento.

Observa-se que os tratamentos alcalino e ácido, isolados ou combinados entre si, apresentaram pouca interferência sobre o poder de inchamento e a solubilidade dos grânulos de amido em todas as temperaturas analisadas. Entretanto o tratamento oxidativo tanto isolado como combinado com os demais, apresentou efeito pronunciado sobre as variáveis, principalmente nas temperaturas de incubação mais elevadas (80 °C a 90 °C).

A solubilidade dos amidos analisados variou de 0,09% para o amido de milho nativo à 60 °C a 13,45% para o tratamento 18 à 90 °C. A solubilidade representa a quantidade de moléculas de amido solubilizadas a uma determinada temperatura. Em geral, a solubilidade aumenta com o incremento no grau de oxidação e com o acréscimo na temperatura de incubação. Wang e Wang (2003) oxidando amido de milho, variando a concentração de hipoclorito de 0 a 3% encontraram um aumento substancial na solubilidade com o incremento na concentração de hipoclorito de sódio, apresentando valores de 7,9% a 66,3% respectivamente, na temperatura de 95 °C. Embora a temperatura de 60 °C esteja abaixo da temperatura de gelatinização, uma pequena quantidade de moléculas de amido são capazes de se lixiviar, presumidamente moléculas de amilose.

4.6 Suscetibilidade enzimática

A suscetibilidade enzimática dos amidos de milho submetidos a tratamento alcalino, ácido e oxidativo após 48 horas de digestão com α -amilase bacteriana, pode ser visualizada na Tabela 8.

Tabela 8. Porcentagem de hidrólise de amidos de milho modificados com tratamento alcalino, ácido e oxidativo.

Tratamento	Hidrólise (%)
1	26,5 ± 0,7 ^{ghij}
2	19,2 ± 1,4 ^m
3	30,4 ± 1,4 ^{abcde}
4	27,5 ± 1,0 ^{efghij}
5	25,3 ± 1,3 ^{ij}
6	29,2 ± 0,4 ^{bcdefg}
7	25,4 ± 1,1 ^{ij}
8	22,0 ± 1,1 ^{lm}
9	29,7 ± 1,2 ^{bcdef}
10	27,4 ± 1,4 ^{efghij}
11	25,8 ± 0,1 ^{hij}
12	31,5 ± 1,0 ^{abc}
13	27,9 ± 0,5 ^{efghi}
14	27,2 ± 0,3 ^{efghij}
15	31,8 ± 1,1 ^{abc}
16	28,5 ± 0,8 ^{cdefg}
17	25,8 ± 0,2 ^{hij}
18	32,1 ± 0,6 ^{ab}
19	29,7 ± 0,7 ^{bcdef}
20	24,7 ± 0,5 ^{jl}
21	31,9 ± 0,3 ^{abc}
22	29,4 ± 1,6 ^{bcdefg}
23	28,1 ± 0,1 ^{efghi}
24	31,3 ± 0,3 ^{abcd}
25	29,0 ± 1,0 ^{cdefg}
26	27,4 ± 0,6 ^{efghij}
27	33,0 ± 0,4 ^a

* Letras diferentes na mesma coluna, diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

Observa-se que os tratamentos apresentaram diferenças significativas quanto à suscetibilidade enzimática. O tratamento alcalino isoladamente aumentou o percentual de hidrólise, aumentando gradualmente, com o incremento da concentração do reagente, passando de 26,5% (nativo) para 29,7% no amido tratado com 0,18% de hidróxido de sódio (Tabela 8), demonstrando que o hidróxido de sódio afetou a estrutura do amido com possível relaxamento da estrutura granular favorecendo o ataque enzimático.

O efeito da oxidação na suscetibilidade enzimática é dependente das condições e intensidade da reação. Segundo Dias (2001), a oxidação química do amido provoca uma despolimerização das moléculas de amilose e amilopectina. Observa-se, que no tratamento oxidativo de forma isolada, ocorreu um aumento significativo na taxa de hidrólise, quando modificado com 2% de hipoclorito de sódio, porém, na concentração de 1% ocorreu o efeito contrário, resultando em teores de hidrólise inferiores, abaixo do amido nativo, sendo a menor (19,2%), observado no tratamento 2. A redução da hidrólise do amido oxidado com 1% de hipoclorito pode ter como causa o aumento da cristalinidade relativa do amido, ocorrido devido à hidrólise mais intensa na região amorfa. Entretanto, com o aumento da concentração do oxidante a degradação do grânulo foi mais intensa favorecendo a ação da enzima. Kuakpetoon e Wang (2006) encontraram um aumento na cristalinidade relativa de amido de milho após tratamento oxidativo com 0,8% de hipoclorito de sódio, ocorrendo um decréscimo quando a concentração de hipoclorito aumentou para 2%.

Conforme sugerido por alguns autores (JACOBS et al., 1998; PLANCHOT et al., 1995), as áreas amorfas dos grânulos de amido são mais rapidamente degradadas pelas α -amilases bacterianas e pancreáticas do que as áreas cristalinas. O amido tratado com 2% de hipoclorito de sódio apresentou menor teor de amilose 32,96% e maior porcentagem de hidrólise 30,40%, comparado ao nativo. Este resultado está de acordo com Rendleman (2000) que estudou a suscetibilidade de amidos de milho com diferentes níveis de amilose, utilizando α -amilase, e constatou que a hidrólise aumenta com a redução no teor de amilose. Zavareze et al. (2010), hidrolisando amido de arroz com diferentes teores de amilose, obteve teores de hidrólise de 18,05%; 23,14% e 29,05% para alta, média e baixa amilose, respectivamente. Verificando que o teor de amilose interfere na taxa de hidrólise.

Franco e Ciacco (1997) observaram a suscetibilidade ao ataque enzimático para amidos de milho de diversas fontes e perceberam que grandes variações na digestibilidade não estavam somente relacionadas com o teor de amilose eram decorrentes também das diferentes estruturas dos grânulos de amido bem como, que a porcentagem de hidrólise aumentava com a diminuição do diâmetro do grânulo. Os resultados encontrados para hidrólise do amido de milho neste trabalho foram inferiores aos de Franco e Ciacco (1997) que obtiveram teores de 38,97%

para amido de milho normal e 56,28% para amido de milho ceroso. Provavelmente, pelo maior teor de amilose do amido estudado.

É possível observar também que o tratamento 27 (0,18% de NaOH, 4% de ácido láctico e 2% de NaOCL) foi o que apresentou maior porcentagem de hidrólise (33,0%), isso se deve, provavelmente, a interação entre o tratamento alcalino e oxidativo. Pois se compararmos o tratamento 7 (25,4%) com o tratamento 1 (26,5%) veremos que o tratamento ácido não influenciou na porcentagem de hidrólise enzimática. De acordo com Nadiha et al. (2010) o tratamento alcalino afeta as propriedades do amido, mas essas mudanças são dependentes do tipo de alcalinizante, concentração utilizada, tempo e tipo de amido.

5 CONCLUSÕES

Os amidos de milho oxidados com 2% de hipoclorito de sódio, de forma isolada, ou combinada com os tratamentos ácido e alcalino propiciam os menores teores de amilose no amido de milho. Já os tratamentos alcalino e ácido, de forma isolada, aumentam o teor de amilose do amido.

Os teores de carbonila e carboxila aumentam gradualmente com o acréscimo da concentração de hipoclorito de sódio nos tratamentos. Os tratamentos alcalino e ácido, de forma isolada ou combinada, reduzem os teores de carbonila e carboxila.

O tratamento alcalino reduz a temperatura de pasta e aumenta a viscosidade máxima, quebra, viscosidade final e retrogradação do amido de milho. O tratamento oxidativo interfere mais intensamente do que o ácido e o alcalino nas propriedades de pasta do amido, provocando um aumento na viscosidade máxima e na quebra além de reduzir a temperatura de pasta e a viscosidade final.

O tratamento com hipoclorito de sódio, de forma isolada, não influencia os resultados de cristalinidade dos amidos. No entanto, a interação entre os tratamentos alcalino e ácido aumenta a cristalinidade do amido de milho.

A oxidação aumenta a solubilidade do amido de milho em todas as temperaturas analisadas e apresenta efeito pronunciado, principalmente nas temperaturas de incubação mais elevadas. Os tratamentos alcalino e ácido, isolados ou combinados entre si, apresentam pouca interferência sobre o poder de inchamento e a solubilidade dos grânulos de amido.

O tratamento alcalino, isoladamente, aumenta o percentual de hidrólise enzimática, sendo que o tratamento ácido, de maneira isolada, não influencia na taxa de hidrólise do amido. O tratamento oxidativo, na maior concentração de hipoclorito de sódio, aumenta significativamente a taxa de hidrólise, porém, há uma redução na menor concentração de hipoclorito de sódio.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AACC - American Association Cereal Chemists. **Approved methods**. 8. ed. Saint Paul, 1995.
- AGGARWAL, P.; DOLLIMORE, D. A thermal analysis investigation of partially hydrolyzed starch. **Thermochimica Acta**, v.319, p.17-25, 1998.
- BELLO-PÉREZ, L.A.; MONTEALVO, M.G.M.; ACEVEDO, E.A. Almidón: definicion, estructura y propiedades. In: LAJOLO, F.M.; MENEZES, E. W. **Carbohidratos em alimentos regionales iberoamericano**. São Paulo: Edusp, 2006. Cap.1, p. 17-46.
- BEMILLER, J.N. Starch modification: challenges and prospects. **Starch/Stärke**, v. 49, n. 4, p 31-127, 1997.
- BILIADERIS, C.G. The structure and interactions of starch with food constituents. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 69, n.1, p. 60-78, 1991.
- BLENNOW, A. Starch molecular structure and phosphorylation investigated by a combined chromatographic and chemometric approach. **Carbohydrate Polymers**, v.41, n.2, p. 163-174, 2000.
- BRAMBILLA, E. M. **Obtenção do amido de milho através da moagem via úmida e seus diferentes tipos de modificação química**. 2001. 126p. Monografia (Conclusão de curso superior) – Universidade do Norte do Paraná, Arapongas, 2001.
- CARVALHO FILHO, M. A, S. **Preparação e estudo termoanalítico dos cinamatos de terras raras, exceto (escandio), no estado sólido**. 2000, 145p. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2000.
- CEREDA, M. P. (org.). **Propriedades gerais de amido**. (Série: Culturas de tuberosas amiláceas latino-americanas, v. 1), São Paulo, Fundação Cargill, 2001, v. 1. Cap. 8. 221p.
- CEREDA, M.P.; VILPOUX, O.; DEMIATE, I.M. Amidos modificados. In: CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F. **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2003, v.3. Cap.12, p. 246-332.
- CHÁVEZ-MURILLO, E.C.; WANG, Y.; BELLO-PÉREZ, L.A. Morphological, Physicochemical and Structural Characteristics of Oxidized Barley and Corn Starches. **Starch/Stärke**, v. 60, p. 634–645, (2008).

- CHUNG, Y.; LAI, H. Molecular and granular characteristics of corn starch modified by HCl-methanol at different temperatures **Carbohydrate Polymers**, v.66, p.110–116, 2006.
- DAIUTO, E.R. **Características de féculas de tuberosas e suas relações com resistências dos géis sob condições de estresse aplicada na industrialização de alimentos**. 2005, 146p. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.
- DIAS, A. R. G. **Efeito de oxidantes, de ácidos orgânicos e da fração solúvel em água na propriedade de expansão do amido de mandioca fermentado**. 2001. 149p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.
- DONNALD, A. M. Understanding starch structure and functionality In: ELIASSON, A. C. **Starch in food: structure function and applications**. Boca Raton: CRC Press, cap.5, p. 156-184, 2004.
- EDUARDO, M. P. **Hidrólise enzimática de mandioca e puba para obtenção de xarope de maltose**. 2002, 54p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz, Piracicaba, 2002.
- ELIASSON, A.C.; GUDMUNDSSON, M. Starch: physicochemical and functional aspects. In: ELIASSON, A.C (Ed.). **Carbohydrates in Food**, 2 ed., CRC Press, 2006. cap. 10, p. 391-469.
- FRANCO, C. M. L.; CIACCO, C. F. Estrutura dos grânulos de amido de milho normal e ceroso. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 3, p. 295-300, 1997.
- FRANCO, C.M.L.; DAIUTO, E.R.; DEMIATE, I.M.; CARVALHO, L.J.C.B.; LEONEL, M.; VILPOUX, O.F.; SARMENTO, S.B.S. **Propriedades gerais do amido**. São Paulo: fundação Cargil, 2001. 221p
- FREITAS R. A.; PAULA, R. C.; FEITOSA, J. P. A.; ROCHA, S.; SIERAKOWSKI M.R. A rheological description of mixtures of a galactoxiloglucan with high amylose and waxy corn starches. **Carbohydrate polymers**, v. 51, p. 25-32, 2003.
- GALLANT, D.J.; BOUCHET, B.; BALDWIN, P.M. Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. **Carbohydrate Polymers**, v.32, n. 3, p.177-191, 1997.

- GARCIA, V.; COLONNA, P.; BOUCHET, B.; GALLANT, D. J. Structural changes of cassava starch granules after heating at intermediate water contents. **Starch/Stärke**, v. 49, n. 5, p. 171-179, 1997.
- GUPTA, R.; GIGRAS, P.; MOHAPATRA, H.; GOSWAMI, V. K.; CHAUHAN, B. Microbial α -amylases: a biotechnological perspective. **Process Biochemistry**, v.38, p.1559-1616, 2003.
- HOOVER, R. Acid-treated starches. **Food Review International**, v. 16, p. 369-392, 2000.
- HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: A Review. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, n. 3, p. 253-267, 2001.
- HOSENEY, R. C. **Principios de Ciência y Tecnología de los Cereales**. Editora Acribia, S.A. Zaragoza – España, 1991. 321p.
- IONASHIRO, M. **Fundamentos de Termogravimetria e Análise térmica Diferencial/Calorimetria Exploratória Diferencial**. 1. ed. São Paulo: Giz, 2005, 80p.
- JACOBS, H.; EERLINGEN, R. C.; CLAUWAERT, W.; DELCOUR, J. A. Influence of annealing on the pasting properties of starches from varying botanical sources. **Cereal Chemistry**, v. 72, n. 5, p. 480-487, 1995.
- JACOBS, H.; EERLINGEN, R. C.; SPAEPEN, H.; GROBET, P. J. DELCOUR, J. A. Impact of annealing on the susceptibility of wheat, potato and pea starches to hydrolysis with pancreatin. **Carbohydrate Research**, v. 305, n. 2, p. 193-207, 1998.
- JAILLAIS, B.; OTTENHOF, M. A.; FARHAT, I. A.; RUTLEDGE, D. N. Outer-product analysis (OPA) using PLS regression to study the retrogradation of starch, **Vibrational Spectroscopy**, v. 40, n. 1, p. 10-19, 2006.
- JOBLING, S. Improving starch for food and industrial applications. **Plant Biotechnology**, v.7, p. 210-218, 2004.
- KANG, K.J., KIM, S., LEE, S. K., KIM, S. K. Relationship between molecular structure of acid-hydrolyzed rice starch and retrogradation. **Korean Journal of Food Science and Technology**, v.29, p.876–881, 1997.
- KARIM, A.A.; NADIHA, M.Z.; CHEN, F.K.; PHUAH, Y.P.; CHUI, Y.M.; FAZILAH, A. Pasting and retrogradation properties of alkali-treated sago starch. **Food Hydrocolloids**, v.22, p.1044-1053, 2008.

- KARLSSON, M. E.; ELIASSON, A. C. Gelatinization and retrogradation of potato (*Solanum tuberosum*) starch in situ as assessed by differential scanning calorimetry (DSC). **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v. 36, n. 8, p. 735-741, 2003.
- KOKSEL, H.; MASETCIOGLU, T.; KAHRAMAN, K.; OZTURK, S.; BASMAN, A. Improving effect of lyophilization on functional properties of resistant starch preparations formed by acid hydrolysis and heat treatment **Journal of Cereal Science**, v.47, p. 275-282, 2008.
- KONOO, S.; OGAWA, H.; MIZUNO, H.; ISO, N. The emulsifying ability of oxidized tapioca starch with sodium hypochlorite. **Journal of Japanese Society of Food Science and Technology**, v.43, p.880–886, 1996.
- KRIEGER, K.M.; DUVICK, S.A.; POLLAK, L. M.; WHITE, P.J. Thermal properties of corn starch extracted with different blending methods: microblender and homogenizer. **Cereal Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 553-555, 1997.
- KUAKPEETON, D.; WANG, Y. Characterization of Different Starches Oxidized by Hypochlorite. **Starch/Stärke**. v.53, p. 211-218, 2001.
- KUAKPEETON, D.; WANG, Y. Structural characteristics and physicochemical properties of oxidized corn starches varying in amylose content. **Carbohydrate Research**, v.341, p. 1896-1915, 2006.
- KUAKPETOON, D. S., WANG, Y. J. Locations of hypochlorite oxidation in corn starches varying in amylose content. **Carbohydrate Research**, v.343, p.90-100 2008.
- LAGARRIGUE, S.; ALVAREZ, G.; CUVELIER, G.; FLICK, D. Swelling kinetics of waxy maize and maize starches at high temperatures and heating rates. **Carbohydrate Polymers**, v.73, p. 148-155, 2008.
- LAI, L. N.; KARIM, A. A.; NORZIAH, M. H.; SEOW, C. C. Effects of Na₂CO₃ and NaOH on pasting properties of selected native cereal starches. **Journal of Food Science**, v.69, p.249–256, 2004.
- LAI, L. N.; KARIM, A. A.; NORZIAH, M. H.; SEOW, C. C. Effects of Na₂CO₃ and NaOH on DSC thermal profiles of selected native cereal starches. **Food Chemistry**, V.78, p.355–362, 2002.
- LAWAL, O.S.; ADEBOWALE, K.O.; OGUNSANWO B.M.; BARBA L.L.; ILO, N.S. Oxidized and acid thinned starch derivatives of hybridmaize: functional

- characteristics, wide-angle X-ray diffractometry and thermal properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 35, p. 71-79, 2005.
- LEACH, H. W.; McCOWEN, L. D.; SCHOCH, T. J. Structure of the starch granule. I. Swelling and solubility patterns of various starches. **Cereal Chemistry**, v. 36, n. 6, p. 534-544, 1959.
- LELOUP, V.M.; COLONNA, P.; RING, S.G., ROBERTS, K.; WELLS, B., Microstructure of amylose gels. **Carbohydrate Polymers**, v. 18, p.189-196, 1992.
- LI, J.H.; VASANTHAN T. Hypochlorite oxidation of field pea starch and its suitability for noodle making using an extrusion cooker. **Food Research International**, v. 36, p.381–386, 2003.
- LIMBERGER, V. M.; SILVA, L. P.; EMANUELLI, T.; COMARELA, C. G.; PATIAS, L. D. Modificação química e física do amido de quirera de arroz para aproveitamento na indústria de alimentos. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 84-88, 2008.
- LIU, Q. Starch Modifications and Applications. In: CUI, S. W (Ed.). **Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications**, CRC Press, 2005. cap. 8, p. 357-406.
- LOPES FILHO, J. F.; RAMOS, A. P.; ROMERO, J. T. Difusividades da água, dióxido de enxofre e ácido láctico em grãos de milho durante a maceração para o processo de moagem úmida. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.9, n.4, p. 257-263, 2006.
- LSBU – London South Bank University. **Starch: An explanation of the origin, structure and properties of amylose and amylopectin**. Disponível em: <http://www.lsbu.ac.uk/water/hysta.html>. Acesso em 06 de fevereiro de 2010.
- MARTINEZ, C. Y.; CUEVAS, F. **Evaluación de la calidad culinaria y molinera del arroz**. Guia del estudio. Cali: CIAT. 1989. 75 p.
- MARTÍNEZ-BUSTOS, F.; AMAYA-LLANO, S. L.; CARBAJAL-ARTEAGA, J. A.; CHANG, Y. K.; ZAZUETA-MORALES, J. J. Physicochemical properties of cassava, potato and jicama starches oxidised with organic acids. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.87, p.1207-1214, 2007.
- MARTINEZ-BUSTOS, F.; AMAYA-LLANO, S.L.; CARBAJAL-ARTEAGA, J.A.; CHANG, Y.K.; ZAZUETA-MORALES, J.J. Physicochemical properties of cassava, potato and jicama starches oxidized with organic acids. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.87, p.1207-1214, 2007.

- MATSUGUMA, L. S. **Caracterização do amido de mandioca salsa (*Arracacia xanthorrhiza*) nativo e modificado por oxidação**. 2006. 112p. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR, 2006.
- MESTRES, C.; ROUAU, X. Influence of natural fermentation and drying conditions on the physicochemical characteristics of cassava starch. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 74, n. 2, p. 147-155, 1997.
- MONDRAGÓN, M.; BELLO-PERÉZ, L. A.; AGAMA, E.; MELO, A.; BETANCUR-ANCONA, D.; PENÃ, J. L. Effect of nixtamalization on the modification of the crystalline structure of maize starch. **Carbohydrate Polymers**, v.55, p.411–418, (2004).
- MOORTHY, N. S. Physical and functional properties of tropical tuber starches: A review. **Starch/Stärke**, v. 54, n. 12, p. 559-592, 2002.
- MOORTHY, S.N. Large scale industries. In. BALAGOPALAN. Intergrated technologies for value addition and post harvest management in tropical tuber crops. **Thiruvananthapuram: Central Tuber Crops Research Institute**, 2000. Cap.6, p. 106-137.
- MUNHOZ, M. P.;WEBER, F. H.; CHANG, Y. K. Influência de hidrocolóides na textura de gel de amido de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 3, p. 403-406, 2004.
- NADIHA, M.Z.N.; FAZILAH, A.; BHAT, R.; KARIM, A.A. Comparative susceptibilities of sago, potato and corn starches to alkali treatment, **Food Chemistry** (2010), doi: 10.1016/j.foodchem.2010.01.048
- NAKAZAWA, Y.; WANG, Y. J. Effect of annealing on starch-palmitic acid interaction. **Carbohydrate Polymers**, v. 57, n.3, p. 327-335, 2004.
- NAYOUF, M.; LOISEL, C.; DOUBLIER, J. L. Effect of thermomechanical treatment on the rheological properties of crosslinked waxy corn starch. **Journal of Food Engineering**, V. 59, 209–219, 2003.
- NEVES, F.M. Ação Do Bissulfito De Sódio Nas Propriedades Da Farinha De Arroz Motti Tratada Com Ácido Lático. 2007, 97p. **Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial)** Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS 2007.
- OGUNSANWO, B.M.; ADEBOWALE, K.O.; BARBA, L.L.; ILO, N.S.; LAWAL, O.S. Oxidized and acid thinned starch derivatives of hybrid maize: functional

- characteristics, wide-angle X-ray diffractometry and thermal properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.35, p.71–79, 2005.
- PAN, D. D.; JANE, J.-L. Internal Structure of Normal Maize Starch Granules Revealed by Chemical Surface Gelatinization **Biomacromolecules**, v.1, p. 126–132, 2000.
- PARKER, R.; RING, S.G. Aspects of the physical chemistry of starch. **Journal of Cereal Science**, v. 34, n. 1, p. 1-17, 2001.
- PAROVUORI, P., HAMUNEN, A., FORSSEL, P., AUTIO, K. POUTANEN, K. Oxidation of potato starch by hydrogen peroxide. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.43, p.19-23, 1995
- PASSOS, M. **Valorização biotecnológica do hidrolisado fosfórico de amido de mandioca: produção de biomassa e astaxantina utilizando a levedura *Xanthophyllomyces dendrorhous***. 2002., 150p. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2002.
- PENG, L.; ZHONGDONG, L.; KENNEDY, J.F. The study of starch nano-unit chains in the gelatinization process. **Carbohydrate Polymers**, v.68, p. 360 - 366, 2007.
- PERONI, F.H.G. **Características estruturais e físico-químicas de amidos obtidos de diferentes fontes botânicas**. 2003., 118p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, SP, 2003.
- PLANCHOT, V.; COLLONA, P.; GALLANT, D.J.; BOUCHET, B. Extensive degradation of native starch granules by α -amilase from *Aspergillus fumigatus*. **Journal of Cereal Science**, v.21, n. 2, p.163-171, 1995.
- REDDY, I.; SEIB, P.A. Modified Waxy Wheat Starch Compared to Modified Waxy Corn Starch. **Journal of Cereal Science**, v. 31, p. 25–39, 2000.
- RENDLEMAN, J.A. Hydrolytic action of α -amylase on high amylose starch of low molecular mass. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 31, n. 3, p. 171-178, 2000.
- RIBEIRO, E.P.; SERAVALLI, E.A.G. **Química de alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher. Instituto de Mauá de Tecnologia, 2004,183p
- RICHARDSON, S. ; GORTON, L. Characterisation of the substituent distribution in starch and cellulose derivatives. **Analytica Chimica Acta** v.497, p. 27-65. 2003.
- SÁNCHEZ-RIVERA, M.M.; GARCÍA-SUÁREZ, F.J.L.; VELÁZQUEZ DEL VALLE, M.; GUTIERREZ-MERAZ, F.; BELLO-PÉREZ, L.A. Partial characterization of banana

- starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite. **Carbohydrate Polymers**, v.62, p. 50 - 56, 2005.
- SANDHU, K.S.; KAUR, M.; SINGH, N.; LIM, S. A comparison of native and oxidized normal and waxy corn starches: Physicochemical, thermal, morphological and pasting properties. **LWT- Food Science and Technology**, v.41, p.1000-1010, 2008.
- SANDHU, K.S.; SINGH, N.; LIM, S. A comparison of native and acid thinned normal and waxy corn starches: Physicochemical, thermal, morphological and pasting properties. **LWT- Food Science and Technology**, v.40, p.1527-1536, 2007.
- SANGSEETHONG, K.; LERTPHANICH, S.; SRIROTH, K. Physicochemical Properties of Oxidized Cassava Starch Prepared under Various Alkalinity Levels. **Starch/Stärke**, v.61, p. 92–100, 2009.
- SERRANO, P.O.; FRANCO, C.M.L. Modificação Hidrotérmica (“Annealing”) e Hidrólise Enzimática do Amido de Mandioca. **Brazilian Journal of Food and Technology**, v. 8, n. 3, p. 220-232, 2005
- SILVA, R.M.; FERREIRA, G.F.; SHIRAI, M.A.; HAAS, A.; SCHERER, M. L.; FRANCO, C.M.L.; DEMIATE, I.M. Características físico-químicas de amidos modificados com permanganato de potássio/ácido láctico e hipoclorito de sódio/ácido láctico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 66-77, 2008.
- SINGH, J.; KAUR, L.; MCCARTHY, O.J. Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications – A review. **Food Hydrocolloids**, v.21, p.1-22, 2007.
- SINGH, V.; KAUR, L.; MCCARTHY, O.J. Hybrid dependent effect of lactic acid on corn starch yields. *Cereal chemistry*, v. 74, n.3, p. 249-253, 1997.
- SMITH, R.J. **Characterization and Analysis of starchs**: In: WHISTLER, R.L.; PASCHALL, E.F.(Eds.) *Starch:chemistry, technology*, New York: Academic Press, p.620-625, 1967.
- SOROKIN, A.B.; KACHKAROVA-SOROKINA, S.L.; DONZÉ, C.; PINEL, C.; PGALLEZOT, P. From native starch to hydrophilic and hydrophobic products: a catalytic approach, **Topics Catal** v. 27, p.67–76, 2004.

- SRISHUWONG, S.; SUNARTI, T., MISHIMA, ISONO, N.; HISAMATSU, M. Starches from different botanical sources: Contribution of starch structure to swelling and pasting properties. **Carbohydrate Polymers**, v.62, p.25-34, 2005.
- SURMELY, R.; ALVAREZ, H.; **CEREDA, M.P.**; VILPOUX, O.F. Hidrólise do **Amido. Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas. v. 3**, cap. 15, p. 379-448, 2003.
- TAGGART, P. Starch as an ingredient: manufacture and applications. In: ELIASSON. A.C. **Starch in food: Structure, function and applications**. CRC Press, INC., Boca Raton, cap. 12, 2004.
- TAKIZAWA, F.F., SILVA, G.O., KONKEL, F.E., DEMIATE, I.M. Characterization of Tropical Starches Modified with Potassium Permanganate and Lactic Acid. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 47, 921-931, 2004.
- THOMAS, D.J., ATWELL, W.A. **Starches: practical guides for the food industry**. Minnesota: Eagan Press Handbook Series, 1999. 94p.
- TSAI, M.L.; LI, C.F.; LI, C.Y. Effects of granular structures on the pasting behaviors of starches. **Cereal Chemistry**, v.74, n.6, p. 750-757, 1997.
- VATANASUCHART, N.; NAIVIKUL, O.; CHAROENREIN, S.; SRIROTH, K. Molecular properties of cassava starch modified with different UV irradiations to enhance baking expansion. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 61, n. 1, p. 80-87, 2005.
- WANG, N.; YU, J.G.; MA, X.F. Preparation and characterization of thermoplastic starch/PLA blends by one-step reactive extrusion. **Polymer International**, v.56, p.1440-1448, (2007).
- WANG, Y.; WANG, L. Physicochemical properties of common and waxy corn starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite. **Carbohydrate Polymers**, v.52, 207-215, (2003).
- WEBER, F.H.; COLLARES-QUEIROZ F.P.; CHANG, Y.K. Caracterização físico-química, reológica, morfológica e térmica dos amidos de milho normal, ceroso e com alto teor de amilose. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.4, p.748-753, 2009.
- XIE, X.; LIU, Q.; CUI, S. W. Starch Modifications and Applications. In: CUI, S. W (Ed.). **Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications**, CRC Press, 2005. cap. 8, p. 357-406.

- YANG, J. H.; YU, J. G.; MA, X. F. Study on the properties of ethylenebisformamide and sorbitol plasticized corn starch (ESPTPS). **Carbohydrate Polymers**, v.66, p.110–116, 2006.
- YU, L.; CHRISTIE, G. Measurement of thermal transitions using differential scanning calorimetry. **Carbohydrate Polymers**, v.46, p.179-184, 2001.
- ZAVAREZE , E.R.; STORCK, C.R.; CASTRO, L.A.S.; SCHIRMER, M. A.; DIAS, A.R.G. Effect of heat-moisture treatment on rice starch of varying amylose content. **Food Chemistry**, v. 121, p.358-365, 2010.
- ZHANG, S.D., ZHANG, Y.R., ZHU, J., WANG, X.L., YANG, K.K., & WANG, Y.Z. Modified corn starches with improved comprehensive properties for preparing thermoplastics. **Starch/Stärke**, v.59, p.598- 604, 2007.
- ZHONG, Z; SUN, S. Thermal characterization and phase behaviour of cornstarch studied by differential scanning calorimetry. **Journal of Food Engineering**, v.69, p. 453-459, 2005.